

Neue Dibenz[*d,g*]azecine als hochaffine Liganden an humanen Dopaminrezeptoren

**Dissertation
zur Erlangung des akademischen Grades
doctor rerum naturalium
(Dr. rer. nat.)**

vorgelegt dem Rat der Biologisch-Pharmazeutischen Fakultät
der Friedrich-Schiller-Universität Jena

von
Patrick Mohr

geboren am 05. Februar 1975
in Essen

Gutachter:

1. Prof. Dr. J. Lehmann, Jena
2. Prof. Dr. G. Scriba, Jena
3. Prof. Dr. K. Eger, Leipzig

Tag der Doktorprüfung: 10.05.2005

Tag der öffentlichen Verteidigung: 24.05.2005

Die vorliegende Arbeit wurde in der Zeit von April 2001 bis März 2005 am Pharmazeutischen Institut der Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn und am Institut für Pharmazie der Friedrich-Schiller-Universität Jena unter der Leitung von Prof. Dr. rer. nat. Jochen Lehmann angefertigt.

Herrn Prof. Dr. Lehmann danke ich ganz herzlich für die Ermöglichung der Promotion auf diesem interessanten Themengebiet, seine wertvollen Anregungen, konstruktive Kritik und Diskussionsbereitschaft, sowie seine freundliche und humorvolle Art.

Herrn Prof. Dr. Scriba und Herrn Prof. Dr. Eger danke ich für die freundliche Übernahme des Korreferates.

Ebenfalls danken möchte ich allen Kollegen am Pharmazeutischen Institut in Bonn und in Jena für die angenehme Zeit in einer freundschaftlichen Atmosphäre. Besonders bedanken möchte ich mich bei allen Mitgliedern des Arbeitskreises, die mich auf meine Promotionszeit mit viel Freude zurückblicken lassen werden. Im Einzelnen sind dies Christoph Enzensperger, den ich in zahlreichen fachlichen und persönlichen Gesprächen schätzen gelernt habe, Kathrin Lange, Yvonne Schott und Thomas Wittig, mit denen ich Büro und Labor mit viel Freude teilen durfte, sowie Michael Decker, Andreas König und Jörg Konter, deren freundschaftlicher Unterstützung ich mir stets gewiss sein konnte.

Den technischen Mitarbeitern beider Institute, insbesondere Frau Traber für die Durchführung der Calcium-Fluoreszenz-Messungen, sowie Frau Schmalwasser und Frau Wiecha für die Durchführung der Radioligandbindungsexperimente, danke ich für die freundliche Zusammenarbeit und Hilfsbereitschaft.

Allen Kooperationspartnern, die zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben, möchte ich herzlich danken und an entsprechender Stelle noch einmal auf sie verweisen.

Besonders bedanken möchte ich mich auch bei meiner Frau Simone, die viel Zeit in das Korrekturlesen des Manuskriptes investiert hat und mir stets auf liebevolle Art verständnisvoll und hilfsbereit zur Seite stand.

Für Blootwoosch, Kölsch un ming lecker Mädche

Inhaltsverzeichnis	I-V
A. Einleitung	1
A.1 Dopamin	1
A.1.1 Allgemeines	1
A.1.2 Dopamin-Rezeptoren	1
A.1.3 K_i -Werte einiger Liganden an Dopaminrezeptor-Subtypen	5
A.2 Schizophrenie	7
A.3 Neuroleptika	9
A.4 Themenstellung der Arbeit	12
B. Synthetischer Teil	16
B.1 Literaturbekanntes	16
B.2 Synthese von Dibenz[<i>d,g</i>]azecinen, die am Aromat keine Substitution aufweisen	19
B.2.1 Syntheseveruche zur Herstellung von 5,6,7,8,9,14-Hexahydro-dibenz[<i>d,g</i>]azecin	22
B.2.2 Synthese von 5,6,7,8,9,14-Hexahydrodibenz[<i>d,g</i>]azecin und 5,8,9,14-Tetrahydro-dibenz[<i>d,g</i>]azecin-7(6 <i>H</i>)-ol	25
B.2.3 Synthese von 7-Benzyl-5,6,7,8,9,14-hexahydrodibenz[<i>d,g</i>]azecin-Hydrochlorid	31
B.2.4 Synthese von 7-Methyl-5,6,7,8,9,14-hexahydrodibenz[<i>d,g</i>]azecin	32
B.2.5 Synthese von 7,7'-Butylen-bis-5,6,7,8,9,14-hexahydro-dibenz[<i>d,g</i>]azecin und 7,7'-Pentylen-bis-5,6,7,8,9,14-hexahydro-dibenz[<i>d,g</i>]azecin-Dihydrochlorid	33
B.2.6 Synthese von 5-Ethyl-7-methyl-5,6,7,8,9,14-hexahydro-dibenz[<i>d,g</i>]azecin-Hydrochlorid	36
B.3 Synthese von 3-hydroxylierten und 3-methoxylierten Dibenz[<i>d,g</i>]azecinen	40
B.3.1 Synthese von 3-Hydroxy- und 3-Methoxy-7-methyl-5,6,7,8,9,14-hexahydrodibenz[<i>d,g</i>]azecin-Hydrochlorid	40
B.3.2 Synthese von 7-Ethyl-3-hydroxy- und 7-Ethyl-3-methoxy-5,6,7,8,9,14-hexahydrodibenz[<i>d,g</i>]azecin-Hydrochlorid	44

B.3.3	Synthese von 2,4-Dichloro- und 4-Chloro-3-hydroxy-7-methyl-5,6,7,8,9,14-hexahydrodibenz[<i>d,g</i>]azecin-Hydrochlorid	46
B.3.4	Synthese von 2-Amino-3-hydroxy-7-methyl- 5,6,7,8,9,14-hexahydrodibenz[<i>d,g</i>]azecin	48
B.3.5	Synthese von 3-Hydroxy-5,6,7,8,9,14-hexahydrodibenz[<i>d,g</i>]azecin	50
B.3.6	Synthese von 3-Hydroxy-7-(2-hydroxyethyl)- 5,6,7,8,9,14-hexahydrodibenz[<i>d,g</i>]azecin-Hydrochlorid	54
B.3.7	Synthese von 7-Methyl-5,6,7,8,9,14-hexahydrodibenz[<i>d,g</i>]azecin-3-yl-acetat-Hydrochlorid	56
B.4	Synthese von 2-hydroxylierten und 2-methoxylierten Dibenz[<i>d,g</i>]azecinen	58
B.4.1	Synthese von 2-Hydroxy- und 2-Methoxy-7-methyl-5,6,7,8,9,14-hexahydrodibenz[<i>d,g</i>]azecin-Hydrochlorid	58
B.4.2	Synthese von 1,3-Dichloro-2-methoxy-7-methyl-5,6,7,8,9,14-hexahydrodibenz[<i>d,g</i>]azecin-Hydrochlorid	64
B.4.3	Synthese von 1-Chloro- und 3-Chloro-2-hydroxy-7-methyl-5,6,7,8,9,14-hexahydrodibenz[<i>d,g</i>]azecin-Hydrochlorid	66
B.4.4	Syntheseversuche zur Herstellung von 3-Chloro-2-methoxy-7-methyl-5,6,7,8,9,14-hexahydrodibenz[<i>d,g</i>]azecin	69
B.5	Synthese von 1-hydroxylierten und 1-methoxylierten Dibenz[<i>d,g</i>]azecinen	72
B.5.1	Synthese von 1-Hydroxy- und 1-Methoxy-7-methyl-5,6,7,8,9,14-hexahydrodibenz[<i>d,g</i>]azecin-Hydrochlorid	72
B.6	Synthese von 3,11-dihydroxylierten und 3,11-dimethoxylierten Dibenz[<i>d,g</i>]azecinen	78
B.6.1	Synthese von 3,11-Dihydroxy- und 3,11-Dimethoxy-7-methyl-5,6,7,8,9,14-hexahydrodibenz[<i>d,g</i>]azecin-Hydrochlorid	78
B.7	Synthese substituierter Dibenz[<i>d,g</i>]azecin-14(5 <i>H</i>)-one	82
B.7.1	Synthese von 7-Methyl-6,7,8,9-tetrahydrodibenz[<i>d,g</i>]azecin-14(5 <i>H</i>)-on-Hydrochlorid	82
B.7.2	Synthese von 3-Methoxy-7-methyl-6,7,8,9-tetrahydrodibenz[<i>d,g</i>]azecin-14(5 <i>H</i>)-on-Hydrochlorid	87
B.7.3	Synthese von 3-Chloro-2-methoxy-7-methyl-6,7,8,9-tetrahydrodibenz[<i>d,g</i>]azecin -14(5 <i>H</i>)-on	91
B.7.4	Reduktionsversuche zur Herstellung von 3-Chloro-2-methoxy-7-methyl-5,6,7,8,9,14-hexahydrodibenz[<i>d,g</i>]azecin	93

B.8	Synthese von N-substituierten 1,2,3,4-Tetrahydroisochinolin	94
B.8.1	Synthese 2-[2-(3-Methoxyphenyl)ethyl]-1,2,3,4-tetrahydroisochinolin-Hydrochlorid	94
B.8.2	Synthese von 2-[2-(3-Chloro-4-methoxyphenyl)ethyl]-1,2,3,4-tetrahydroisochinolin-Hydrochlorid	95
B.9	Neue und bekannte Synthesewege zur Herstellung von Dibenz[<i>d,g</i>]azecinen im Vergleich.	96
B.9.1	Synthesewege zu Herstellung von Dibenzo[<i>a,h</i>]chinolizinen	96
B.9.2	Spaltungsmöglichkeiten der benzyllischen Bindung zur Herstellung von Dibenz[<i>d,g</i>]azecinen	101
B.10	Strukturaufklärung wichtiger, bei der Darstellung von Dibenz[<i>d,g</i>]azecinen anfallender Substanzen durch GC/MS-Chromatographie	104
B.10.1	Grundlagen	104
B.10.2	Fragmentierungsmuster einiger Dibenz[<i>d,g</i>]azecine	106
B.10.3	Fragmentierungsmuster einiger Dibenzo[<i>a,h</i>]chinolizine	114
B.10.4	Fragmentierungsmuster von N-substituierten Isochinolin-Derivaten	116
C.	Pharmakologischer Teil	119
C.1	Theoretische Grundlagen der Radioligandbindungsstudien	119
C.2	Theoretische Grundlagen des Calcium-Assays	122
C.3	Ergebnisse der Radioligandbindungsstudien und des Calcium-Assays	124
C.3.1	Ergebnisse der Radioligandbindungsstudien	124
C.3.2	Ergebnisse des Calcium-Assays	127
C.3.3	Tabellarische Übersicht der ermittelten K_i -Werte	130
D.	Diskussion	135
D.1	Abhängigkeit der Bindungseigenschaften von der Länge der N-Substitution aromatisch unsubstituierter Dibenz[<i>d,g</i>]azecine	136
D.2	Einfluss einer Alkylseitenkette am Azecinring von Dibenz[<i>d,g</i>]azecinen auf die Bindungseigenschaften an den Dopaminrezeptor-Subtypen	137

D.3	Vergleich der Bindungseigenschaften dimerer Dibenz[<i>d,g</i>]azecine in Abhängigkeit der Länge ihrer Alkylseitenketten	138
D.4	Vergleich von Dibenz[<i>d,g</i>]azecinen ohne N-Alkylrest	139
D.5	Abhängigkeit der Bindungseigenschaften 3-hydroxylierter Dibenz[<i>d,g</i>]azecine von der Länge und Polarität der N-Substitution	141
D.6	Vergleich der Bindungseigenschaften 3-hydroxylierter und 3-methoxylierter Dibenz[<i>d,g</i>]azecine	142
D.7	Vergleich der Bindungseigenschaften hydroxylierter und methoxylierter Dibenz[<i>d,g</i>]azecine in Abhängigkeit der Substituenten-Position	144
D.8	Vergleich chlorierter 3-hydroxylierter Dibenz[<i>d,g</i>]azecine	146
D.9	Vergleich der Bindungseigenschaften chlorierter 2-Hydroxy- und 2-Methoxy-dibenz[<i>d,g</i>]azecine	147
D.10	Vergleich der Bindungseigenschaften zwischen LE 404 und seiner ZNS-gängigen Prodrug-Variante 79	148
D.11	Einfluss weiterer Substituenten in 2-Position auf die Bindungseigenschaften von 3-Hydroxy-dibenz[<i>d,g</i>]azecinen	149
D.12	Vergleich der Bindungseigenschaften zwischen 3-mono- und 3,11-dihydroxylierten und methoxylierten Dibenz[<i>d,g</i>]azecinen	150
D.13	Vergleich der Bindungseigenschaften verschiedener Dibenz[<i>d,g</i>]azecinone	152
D.14	Auswirkung des Rigiditätsverlustes auf die Bindungseigenschaften offenkettiger Analoga der Dibenz[<i>d,g</i>]azecine	153
E.	Zusammenfassung	155
F.	Abstract	159
G.	Experimenteller Teil	160
G.1	Experimenteller Teil, Synthesen	160
G.1.1	Allgemeine Angaben zu Materialien und Geräten	160
G.1.2	Monographien	161

G.2	Experimenteller Teil, Radioligandbindungsstudien	233
G.2.1	Allgemeine Angaben zu Materialien und Geräten	233
G.2.1.1	Eingesetzte Zelllinien	233
G.2.1.2	Radioliganden und Testsubstanzen	235
G.2.1.3	Reagenzien und Puffer	235
G.2.2	Versuchsdurchführung	236
G.2.2.1	Lagerung und Vermehrung der Zellen	236
G.2.2.2	Herstellung der Ganzzellsuspension	237
G.2.2.3	Durchführung der Bindungsexperimente	237
G.3	Experimenteller Teil, Calcium-Assay	240
G.3.1	Allgemeine Angaben zu Materialien und Geräten	240
G.3.1.1	Eingesetzte Zelllinien	240
G.3.1.2	Standard-Agonisten bzw. -Antagonisten und Testsubstanzen	241
G.3.1.3	Reagenzien und Puffer	242
G.3.2	Versuchsdurchführung	243
G.3.2.1	Lagerung und Vermehrung der Zellen	243
G.3.2.2	Herstellung der Ganzzellsuspension	243
G.3.2.3	Durchführung der Calcium-Fluoreszenz-Messung	244
G.3.2.3.1	Messung der antagonistischen Aktivität	244
G.3.2.3.2	Messung der agonistischen Aktivität	245
G.3.2.3.3	Auswertung der Messergebnisse	246
G.3.2.3.4	Eingestellte Parameter des NOVOstar Microplate-Readers	246
H.	Abkürzungsverzeichnis	250
I.	Literaturverzeichnis	252
J.	Register der synthetisierten Verbindungen	258
	Selbstständigkeitserklärung	
	Lebenslauf	

A. Einleitung

A.1 Dopamin

A.1.1 Allgemeines

Dopamin ist ein zur Gruppe der Catecholamine gehörender Neurotransmitter folgender Struktur:

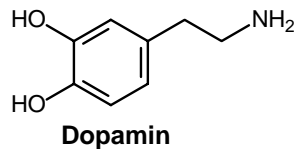


Abb. A.1: Struktur des Dopamins

Es kann im menschlichen Organismus sowohl aus Phenylalanin, als auch aus Tyrosin synthetisiert werden. Die Biosynthese läuft hauptsächlich in den chromaffinen Zellen von Nebennierenmark, Hypothalamus, Substantia nigra und anderen Bereichen des Nervensystems ab. Dopamin fällt dabei als „Zwischenprodukt“ bei der Synthese von Adrenalin und Noradrenalin an.

Die Entfernung des Dopamin aus dem Extrazellularraum erfolgt hauptsächlich durch Aufnahme in die Zellen, wo es in Vesikeln gespeichert oder direkt metabolisiert wird. Für die weitere enzymatische Inaktivierung sind in der Regel die Enzyme Monoaminoxidase (MAO) sowie Catechol-O-Methyltransferase (COMT) verantwortlich.

Die Wirkung des Dopamin beruht mit Ausnahmen auf der Interaktion mit dopaminergen Rezeptorsubtypen (s. u.), die postsynaptisch stimuliert werden, während präsynaptische D₂-Autorezeptoren die Dopamin-Freisetzung regulieren (s. Abb. A.2).

A.1.2 Dopamin-Rezeptoren

Die Dopamin-Rezeptoren lassen sich in zwei Familien gliedern: Die D₁-Familie, bestehend aus D₁- und D₅-Rezeptoren, und in die D₂-Familie, bestehend aus D₂-, D₃- und D₄-Rezeptoren. Die weit häufiger auftretenden D₁- und D₂-Rezeptoren (> 90%) wurden erstmals von Keibian *et al.* [Keibian, 1979] formuliert, und zwar aufgrund des unterschiedlichen Verhaltens zweier Dopaminrezeptor-Subtypen gegenüber der Adenylatcyclase. D₁-Rezeptoren bewirkten eine Stimulierung des Enzyms, während D₂-Rezeptoren selbiges Enzym hemmten. In späteren Jahren wurden schließlich noch die D₃-, D₄- und D₅-Rezeptor-Subtypen gefunden, jeweils mit einigen Untervarianten, die sich auf die zwei genannten Familien aufteilen ließen und somit die These von Keibian bestätigten.

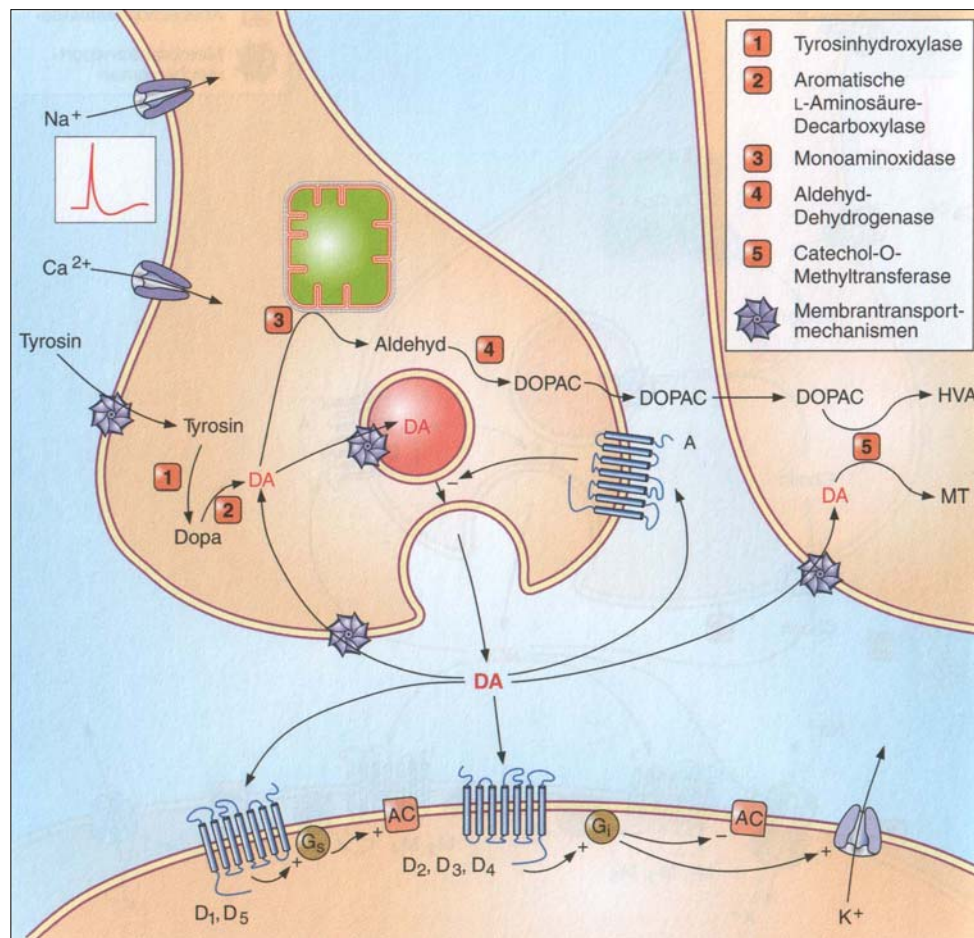


Abb. A.2: Synaptische Übertragung, Synthese und Metabolismus des Dopamins (nähere Erläuterungen s. Kap. A.1.1) [Aktories, 2005]

Bei den Dopaminrezeptor-Subtypen handelt es sich grundsätzlich um G-Protein-gekoppelte Rezeptoren, die aus sieben transmembranären Domänen aufgebaut sind. Die Einteilung in zwei Familien erfolgt dabei weniger aufgrund der unterschiedlichen Aminosäureanzahl, die zwischen 380 und 480 Aminosäuren schwankt, sondern vielmehr aufgrund der Unterschiede in der Aminosäuresequenz. Hier zeigt sich, dass im Gegensatz zur D₂-Familie die dritte cytoplasmatische Schleife der D₁-Familie einiges kürzer, hingegen das intrazelluläre C-terminale Ende länger erscheint. Dadurch lässt sich ebenfalls der stimulierende (G_s) bzw. inhibierende (G_i) Effekt der D₁- bzw. D₂-Familie auf die Adenylatcyclase erklären [Webster, 2001].

Im Folgenden soll kurz auf die charakteristischen Eigenschaften der einzelnen Dopaminrezeptor-Subtypen eingegangen werden.

D₁-Rezeptor: zur D₁-Familie gehörig; G_s-gekoppelt; bestehend aus 446 Aminosäuren;
 Vorkommen im ZNS: hauptsächlich Striatum, Nucleus accumbens,
 Tuberculum olfactorium, Hypothalamus, Thalamus

D₂-Rezeptor: zur D₂-Familie gehörig; G_i-gekoppelt; liegt in zwei Isoformen vor (D_{2L}, D_{2S}); bestehend aus 414 (D_{2S(short)}) bzw. 443 (D_{2L(long)}) Aminosäuren;
Vorkommen im ZNS: hauptsächlich Striatum, Nucleus accumbens, Tuberculum olfactorium, Substantia nigra, Hypothalamus

D₃-Rezeptor: zur D₂-Familie gehörig; G_i-gekoppelt; bestehend aus 440 Aminosäuren;
Vorkommen im ZNS: hauptsächlich Nucleus accumbens, Tuberculum olfactorium, Hypothalamus, Substantia nigra

D₄-Rezeptor: zur D₂-Familie gehörig; G_i-gekoppelt; bestehend aus 385 Aminosäuren;
Vorkommen im ZNS: hauptsächlich Amygdala, Frontaler Cortex, Hippocampus, Hypothalamus

D₅-Rezeptor: zur D₁-Familie gehörig; G_s-gekoppelt; bestehend aus 477 Aminosäuren;
Vorkommen im ZNS: hauptsächlich Hippocampus, Hypothalamus

Die Dopaminrezeptoren des Zentralnervensystems lassen sich auf fünf wichtige dopaminerge Systeme aufteilen (nach Oberdisse *et al.* [Oberdisse, 1999]):

Das mesokortikale- und mesolimbische Dopamin-System, welches sich im Mittelhirn in der Nähe der Substantia nigra befindet, ist vor allem für die Beeinflussung von Stimmungen und von Denkprozessen verantwortlich. Die antipsychotischen Effekte vieler Dopamin-Antagonisten (durch Blockade des D₂-Rezeptors), sowie zahlreiche suchterzeugende Stoffe, die zur Freisetzung von Dopamin führen, werden auf dieses System zurückgeführt.

Das nigrostriatale Dopamin-System führt von der Substantia nigra zum Corpus striatum und ist dort für die Regulierung der Extrapyramidalmotorik verantwortlich. Ein Dopaminmangel in diesem System löst parkinsonoide Symptome aus.

Das hypothalamisch-medullare Dopamin-System ist an der Regulierung vegetativer Funktionen (Temperatur, Blutdruck etc.) beteiligt.

Die Chemorezeptortriggersonne in der Medulla oblongata ist für den Brechreiz verantwortlich. Einige Dopamin-Antagonisten können dort über die Area postrema eine antiemetische Wirkung erzielen.

Das tuberoinfundibuläre Dopamin-System, im Nucleus infundibularis lokalisiert, ist schließlich für die Prolaktinfreisetzung aus dem Hypophysenvorderlappen verantwortlich. Störungen dieses Systems, genauer Blockade der D₂-Rezeptoren, führen zur vermehrten Prolaktinfreisetzung. Dies kann u.a. zu Galaktorrhö und Gynäkomastie führen.

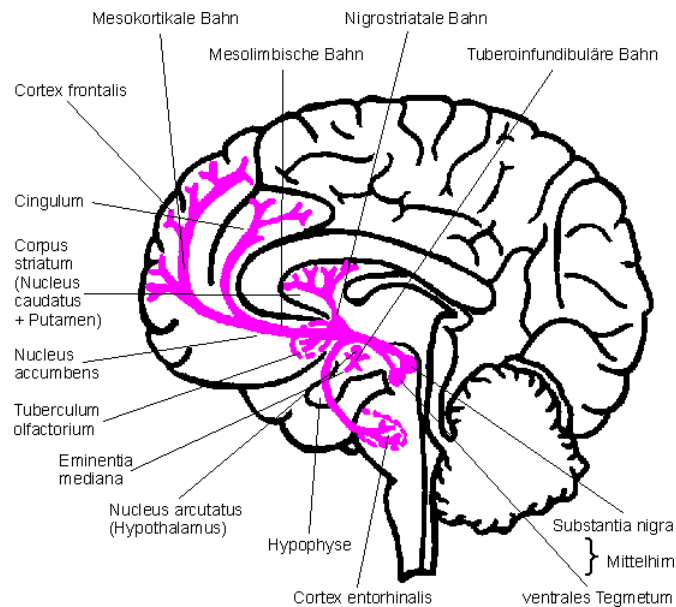
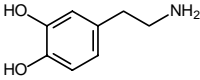
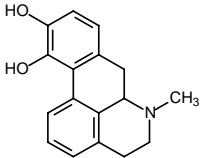
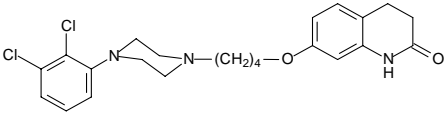
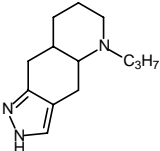
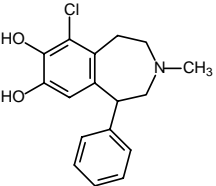
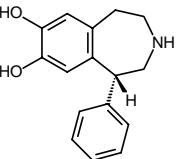


Abb. A.3: Wichtige dopaminerge Systeme des Zentralnervensystem (nach [Klein, 2000])

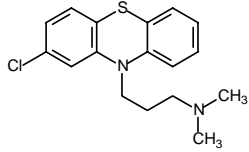
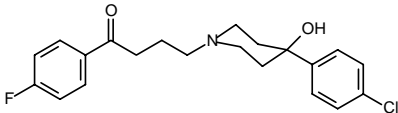
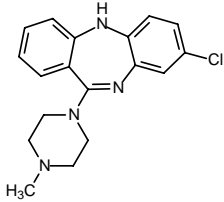
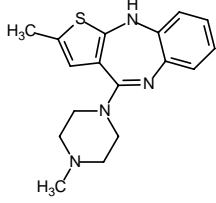
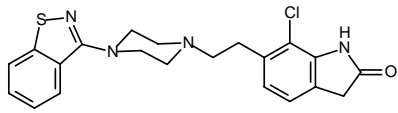
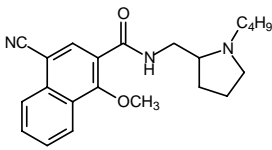
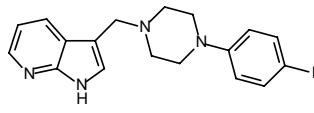
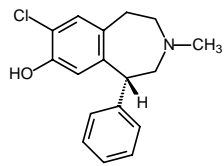
Neben diesen im ZNS lokalisierten dopaminergen Rezeptoren befinden sich weitere in der Peripherie, wo sie unter anderem an der Regulierung der Nieren- und Mesenterialgefäße beteiligt sind (D₁-vermittelt).

A.1.3 K_i -Werte einiger Liganden an Dopaminrezeptor-Subtypen

Tabelle A.1 zeigt einige Liganden, die agonistische bzw. antagonistische Affinität an den dopaminergen Rezeptorsubtypen aufweisen, bestimmt in Radioligandbindungsstudien. Enthalten sind einige therapeutisch verwendete Arzneistoffe, sowie die für Radioligandbindungsstudien und für Calcium-Fluoreszenz-Messungen verwendeten Standard-Agonisten bzw. Antagonisten. Zusätzlich werden einige Substanzen mit auffälliger Subtypselektivität vorgestellt. Hohe Aktivitäten an den jeweiligen Rezeptor-Subtypen sind in der Tabelle hervorgehoben.

Strukturformel	Agonisten [Literatur]	K _i -Werte [nM]				
		D ₁	D ₂	D ₃	D ₄	D ₅
	Dopamin [Kebabian, 1997]	0.80	7.5	3.9	28	30
	Apomorphin [Roth, 2003]	540	42	27	3.5	363
	Aripiprazol [Liebermann, 2004]	265	0.34	0.8	44	95
	Quinpirol [Kebabian, 1997]	1900	3.3	4.0	18	-
	SKF 83959 [Neymeyer, 2003]	1.18	920	399	-	7.56
	SKF 38393 [Seeman, 1994]	1	150	5000	1000	0.5

Tab. A.1: Übersicht über einige Dopaminrezeptor-Agonisten

Strukturformel	Antagonisten [Literatur]	K _i -Werte [nM]				
		D ₁	D ₂	D ₃	D ₄	D ₅
	Chlorpromazin [Seeman, 1994]	90	3	4	35	130
	Haloperidol [Kebabian, 1997]	60	1.3	9.8	5.1	48
	Clozapin [Seeman, 1994]	170	230	170	21	330
	Olanzapin [Rowley, 2001]	10	2.1	49	28	-
	Ziprasidon [Rowley, 2001]	9.5	2.8	10	39	-
	Nafadotrid [Kebabian, 1997]	890	3.0	0.31	1.78	-
	L 750667 [Kebabian, 1997]	4500	1700	4500	0.51	4500
	SCH 23390 [Seeman, 1994]	0.2	1100	800	3000	0.3

Tab. A.1: Übersicht über einige Dopaminrezeptor-Antagonisten

A.2 Schizophrenie

Die Schizophrenie („Spaltungsirresein“), ein vom Psychiater E. Bleuler 1911 geprägter Begriff, gehört zur Hauptgruppe der endogenen Psychosen, bei denen es zu charakteristischen Störungen im Bereich des Denkens, der Sprache, der Affektivität und der Selbst- und Fremdwahrnehmung kommt. Die Wahrnehmung der eigenen Person, der Umwelt und anderer Menschen kann dabei völlig unrealistisch verändert und verzerrt erscheinen. Sinnestäuschungen können im akustischen (z.B. Stimmen hören), optischen (Trugbilder), aber auch im Geruchs- und Geschmacksbereich entstehen. Ebenso kann es zu Störungen des Willens und der Psychomotorik kommen, was sich in Bewegungslosigkeit oder motorischer Unruhe äußern kann.

Dabei werden die klinischen Merkmale in positive und negative Symptome eingeteilt. Die sogenannte Positivsymptomatik umfasst Denkstörungen, Wahnvorstellungen, Halluzinationen und affektives Verhalten, während die Negativsymptomatik im Wesentlichen die Merkmale der Apathie, Affektverarmung und des sozialen Rückzugs beinhaltet [Dilling, 2003]. Eine von der WHO entwickelte und bei DIMDI [DIMDI, 2005] veröffentlichte Klassifizierung in verschiedene Unterarten der Schizophrenie, wie z.B. die paranoide oder katatone Form der Schizophrenie uvm., versucht den breitgefächerten Symptomenkomplex zu systematisieren und so eine mögliche Therapie zu optimieren.

Die Ursache der Schizophrenie, mit einer Lebenszeitprävalenz von 1%, ist bis heute nur unzureichend aufgeklärt. Gesichert ist, dass eine genetische Disposition zur Erkrankung beiträgt, ein monogenetischer Effekt aber auszuschliessen ist. Dabei werden Polymorphismen des D₂-Rezeptor-Gens einer Beteiligung an der Erkrankung zugesprochen [Glatt, 2003], aber auch andere Gene, die wichtige Proteine für den Neurotransmitterstoffwechsel kodieren, wie z.B. der G-Protein-Regulator am Chromosom 1 konnten in Bindungsstudien mit der Erkrankung in Verbindung gebracht werden [Lewis, 2003]. Des Weiteren wurden morphologische Veränderungen am Gehirn schizophrenie-erkrankter Patienten beobachtet, u.a. eine Abnahme des cerebralen (kortikalen und hippocampalen) Volumens. Eine einheitliche Veränderung der Neuronen in Bezug auf Größe, Anzahl und Verteilung der beobachteten Probanden konnte ebenfalls festgestellt werden [Harrison, 1999]. Diskutiert wird darüber hinaus auch eine prä- oder perinatal erworbene biologische Disposition, die in Interaktion mit biopsychosozialen Einflußfaktoren zur Krankheitsmanifestation führt.

Die Dopamin-Hypothese der Schizophrenie vermutet die Ursache der Erkrankung in einer gestörten dopaminergen Transmission im Gehirn [Davis, 1991], vor allem in einem Ungleichgewicht zwischen dem mesolimbischen und dem mesokortikalen Dopaminsystem

(s. Kap. A.1.2). Hierbei wird die Positivsymptomatik durch eine vermehrte Dopaminaktivität im mesolimbischen System erklärt, während die Negativsymptomatik auf eine hypodopaminerge Aktivität des mesokortikalen Systems zurückgeführt wird.

Begründet wurde dies unter anderem auch mit der Wirksamkeit zahlreicher D₂-Antagonisten, typische Antipsychotika der 1. Generation (s. Tab. A.1), die eine gute Wirksamkeit gegen die Positivsymptomatik, aber nicht gegen negative Symptome zeigten.

In *Post-mortem*-Studien wurden erhöhte Dopaminspiegel inklusiv seiner Metabolite nachgewiesen [Duncan, 1999], während *in vivo* bei Schizophrenie-Erkrankten bei neuronaler Stimulation eine erhöhte Freisetzung von Dopamin aus den Synapsen im Vergleich zu gesunden Probanden beobachtet werden konnte. Dieser Effekt erscheint dabei abhängig vom Status der Erkrankten, d.h. erhöhte Dopaminspiegel wurden überwiegend bei akuten Psychosen und nicht während symptomloser Perioden beobachtet [Laruelle, 1999]. Diese und andere Studien, wie die abnormale Gen-Expression präsynaptischer Proteine [Mirnics, 2000], lassen eine mögliche Dysregulierung der Funktionen der Dopaminvesikel vermuten.

In PET und SPECT-Studien konnten teilweise erhöhte D₂-Rezeptor-Dichten nachgewiesen werden [Wong, 1986], während andere Daten von einer Abnahme der D₁-Rezeptoren im prefrontalem Cortex in Abhängigkeit zum Schweregrad der Negativsymptomatik berichten [Okubo, 1997]. Eine Stimulation der D₁-Rezeptoren im prefrontalem Cortex soll darüber hinaus die kognitiven Defizite ausgleichen [Goldman-Rakic, 2004]. Auch eine Erhöhung der D₄-Rezeptorzahl im Gehirn erkrankter Patienten wurde diskutiert [Seeman, 1993]. Durch die Gabe von D₄-Antagonisten konnte aber keine Verbesserung des schizoiden Erkrankungsbildes erzielt werden [Corrigan, 2004].

Obwohl der dopaminerge Haushalt nach wie vor eine Schlüsselrolle in der Pathophysiologie der Schizophrenie spielt, zeigen immer mehr Studien, dass neben dem dopaminergen auch das serotonerge, glutamaterge und GABAerge System in die Erkrankung involviert sein müssen. Dies spiegelt sich in den neueren atypischen Neuroleptika wieder, die durch unterschiedlichste Rezeptorprofile aufwarten. Neben der dopaminantagonistischen Affinität bewirken diese Arzneistoffe häufig zusätzlich eine Blockade des serotonergen 5HT_{2A}-Rezeptors (s.Tab. A.1). Selbst partielle Dopamin-Agonisten, wie Aripiprazole (s. Tab. A.1) scheinen sich positiv auf den Symptomenkomplex des Schizophrenen auszuwirken [Lieberman, 2004]. Auf diese und weitere neuroleptisch wirkende Substanzen wird im folgenden Kapitel näher eingegangen.

A.3 Neuroleptika

Anfang der 50er Jahre gelang es erstmals die Symptome der Schizophrenie mit Erfolg medikamentös zu behandeln. Dabei gelang es vor allem die Positivsymptomatik günstig zu beeinflussen und so die Hospitalisierungszeit zu verringern und eine Eingliederung des Patienten in sein soziales Umfeld zu ermöglichen.

Zu den ersten wirksamen Neuroleptika zählte die Gruppe der Phenothiazine (**1**), insbesondere das Chlorpromazin (s. Tab. A.1), welches ursprünglich als Antihistaminikum angewandt wurde. Es folgte die Gruppe der Thioxanthere (**2**), die sich strukturell von den Phenothiazinen durch Ersatz des Stickstoffs mit einem C-Atom, sowie einer Verbindung der Seitenkette mit dem Ringsystem über eine Doppelbindung, unterscheiden [Aktories, 2005].

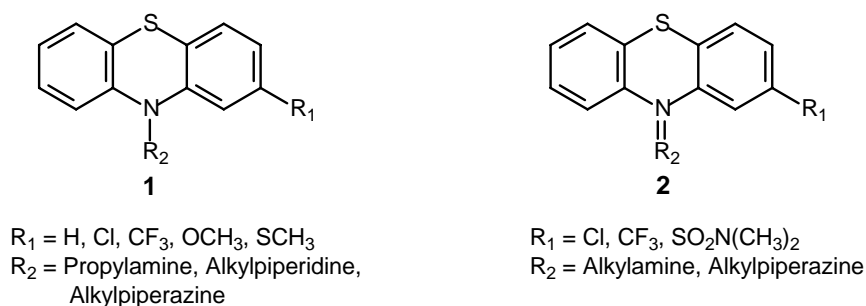


Abb. A.4: Phenothiazine (**1**) und Thioxanthene (**2**) (konventionelle Neuroleptika)

Ende der 50er Jahre wurden dann die Butyrophenone (**3**) entwickelt, mit Haloperidol als Hauptvertreter (s. Tab. A.1). Diesen ähnlich sind die Diphenylbutylpiperidine (**4**), die mit den Butyrophenonen eine viergliedrige Kette zwischen Aromat und Piperidinring gemeinsam haben.

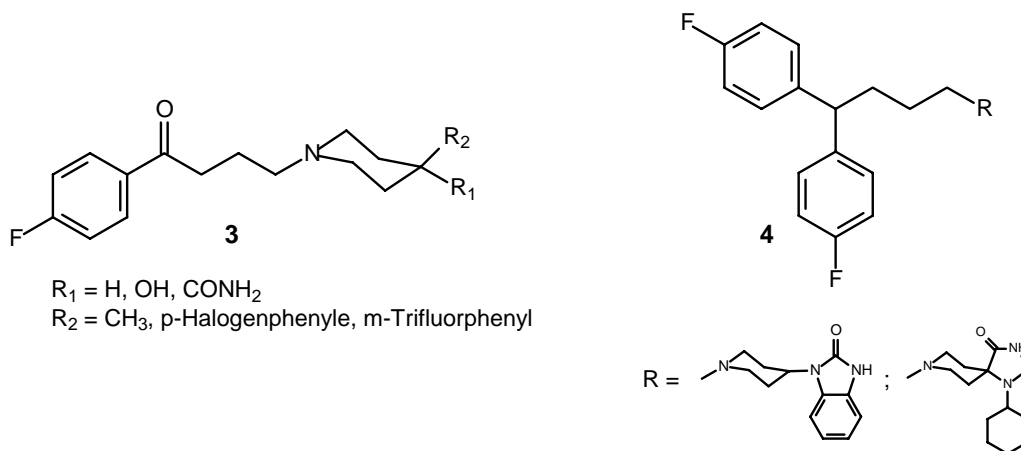


Abb. A.5: Butyrophenone (**3**) und Diphenylbutylpiperidine (**4**) (konventionelle Neuroleptika)

Diese zusammengefasst als konventionelle oder klassische Neuroleptika bezeichneten Arzneistoffe zeigen alle eine antagonistische Wirkung an Dopaminrezeptoren mit Prävalenz zur D₂-Rezeptor-Familie. Sie wirken, wie schon erwähnt, hauptsächlich gegen die Positivsymptomatik, führen hingegen nicht zu einer Abschwächung der Negativsymptome. Als wesentlicher Nachteil müssen die extrapyramidalen Bewegungsstörungen genannt werden, die durch D₂-Blockade im Corpus striatum hervorgerufen werden. Ebenso besitzen sie sedierende (H₁-Blockade) und antiemetische (D₂-Blockade der Area postrema) Effekte und führen über eine Blockade der D₂-Rezeptoren im Hypophysenvorderlappen zur vermehrten Prolaktinausschüttung (s. auch Kap. A.1.2) [Aktories, 2005].

Vor allem aufgrund der extrapyramidal-motorischen Nebenwirkungen kam es zur Entwicklung der Klasse der atypischen Neuroleptika. Hierzu zählen unter anderem das Clozapin und seine Analoga (**5**), sowie das Ziprasidon (**6**) neben einigen weiteren.

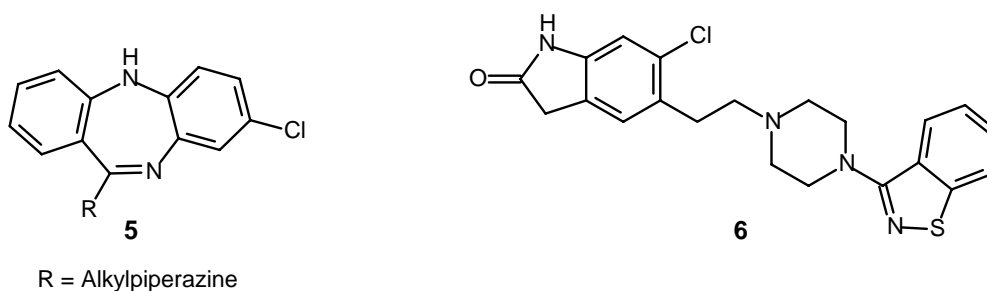


Abb. A.6: Clozapin-Analoga (**5**) und Ziprasidon (**6**) als Beispiele für atypische Neuroleptika

Die Gruppe der atypischen Neuroleptika unterscheidet sich von den konventionellen Arzneistoffen durch völliges Fehlen oder nur gering ausgeprägten extrapyramidal-motorischen Nebenwirkungen und einer Abschwächung der Negativsymptomatik. Dies wird im Wesentlichen auf ein verändertes Rezeptorprofil zurückgeführt, so dass neben den D₂-Rezeptoren z.B. vermehrt 5HT_{2A}-Rezeptoren blockiert werden. Ebenfalls wird eine stärkere Hemmung des mesolimbischen und weniger des striatären Dopaminsystems diskutiert [Strange, 2001]. Die leicht ausgeprägte Selektivität des Clozapins zum D₄-Rezeptor konnte bislang keinem Effekt des Wirkprofils zugeordnet werden. Als wichtige Nebenwirkung seien die sehr selten vorkommende Agranulocytose und das maligne neuroleptische Syndrom genannt.

Eine neue Klasse der Antipsychotika wurde in dem partiellen Dopamin-Agonisten Aripiprazol gefunden (s. Tab. A.1). Aufgrund der im Vergleich zum Vollagonisten geringeren intrinsischen Aktivität zum Rezeptor soll diese Klasse sowohl als funktioneller Agonist als auch als Antagonist wirken können. Es konnte gezeigt werden, das Aripiprazol in Gegenwart eines Vollagonisten antagonistische Aktivität aufweist [Lieberman, 2004]. So wird eine

antagonistische Wirkung im mesolimbischen Dopamin-System aufgrund hoher Dopamin-Aktivität diskutiert, während die Substanz gleichzeitig im Dopaminmangelgebiet des mesokortikalen Dopamin-Systems als Agonist die Negativsymptome und die kognitive Schädigung verbessert. Darüber hinaus soll eine Blockade des nigrostriatalen und des tuberoinfundibularen Dopamin-Systems unterdrückt werden, so dass extrapyramidale Symptome und erhöhte Prolaktinspiegel verringert werden könnten. Ebenso konnte eine 5HT_{2A}-Rezeptor blockierende Wirkung nachgewiesen werden. Weitere klinische Studien werden zeigen, ob sich obige Beobachtungen bestätigen werden [*Lieberman, 2004*].

Abschließend kann gesagt werden, dass es sich bei der Schizophrenie um eine sehr komplexe Erkrankung handelt, in dem nach wie vor die Dopaminrezeptor-Subtypen eine wichtige Rolle spielen. Hier müssen weitere Erkenntnisse über die einzelnen Subtypen gefunden werden. Besonders die Entwicklung subtypselektiver Liganden und Liganden mit speziellen Rezeptorprofilen kann maßgeblich zu neuem Wissen über die Wirkungsweise der einzelnen Dopaminrezeptor-Subtypen und den damit verbundenen Krankheitsbildern beitragen.

Bislang wurden nur einige wenige aus der Literatur bekannte Liganden mit interessanten Affinitäts- und Selektivitätsprofilen an den Dopaminrezeptor-Subtypen beschrieben:

Mit dem Liganden **L 750667** (s. Tab. A.1), welches eine 5000-10000fache Selektivität des D₄- gegenüber den anderen Dopaminrezeptor-Subtypen aufweist, gelang es erstmals, eine nur zu einem Subtyp selektive Substanz zu entwickeln. Andere Liganden zeigen zwar eine gewisse Prävalenz zu einem Subtyp, wie z.B. das Nafadotrid zum D₃-Rezeptor (s. Tab. A.1), sind aber in der Regel innerhalb einer Dopaminrezeptor-Familie nicht selektiv. So besitzt der für die hier beschriebenen Bindungsstudien verwendete Standard-Antagonist **SCH 23390** der Firma Schering eine ca. 4000fache Selektivität der D₁- gegenüber der D₂-Rezeptorfamilie bei gleicher Affinität innerhalb der Familie (s. Tab. A.1).

A.4 Themenstellung der Arbeit

Mit dem von T. Witt [Witt, 1994 u. 2000] aus unserem Arbeitskreis synthetisierten, hochaffinen Dopaminantagonisten **LE 300**, einem Benz[*d*]indolo[2,3-*g*]azecin, wurde eine Leitstruktur entwickelt, die zu einer Klasse neuartiger Dopaminrezeptor-Liganden führte. Die Idee war, eine Struktur zu entwickeln, die die Grundstruktur der beiden Neurotransmitter Dopamin und Serotonin enthält (s. Abb. A.7), um diese dann in verschiedenen Bindungsstudien in Bezug auf ihre Affinität und Selektivität an den Dopaminrezeptor-Subtypen untersuchen zu können.

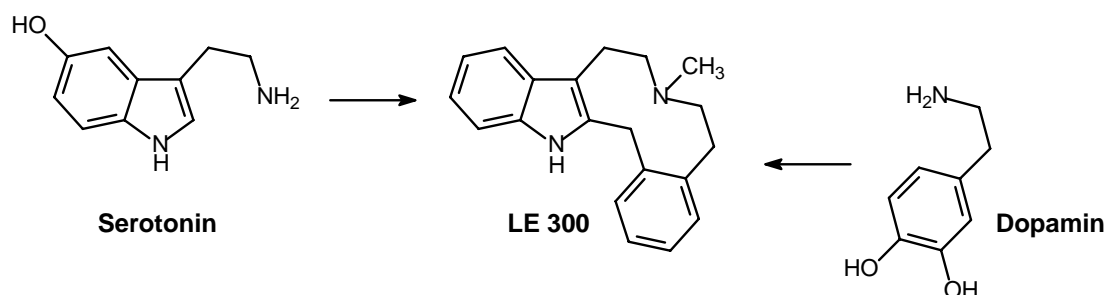


Abb. A.7: Dopamin und Serotonin als Synthesebausteine für **LE 300**

Darauf basierend wurden durch zahlreiche Variationen der Struktur des **LE 300**, z.B. durch verschiedene Substitutionsmuster, Veränderungen, Ersatz oder Entfernen des Phenyl- bzw. Indolrings, neue Verbindungen hergestellt, um weitere Erkenntnisse über Struktur-Wirkungs-Beziehungen zu gewinnen.

Besonders interessant erwies sich dabei der Ersatz des Indolrings durch einen Phenylrest. Hydroxylierung in 3-Stellung des Aromaten dieser als Dibenz[*d,g*]azecine bezeichneten Klasse führte zur hochaffinen Verbindung **LE 404 (62)** [Schweikert, 1999] (s. Kap. B.3.1), die sich als starker Dopaminrezeptor-Antagonist erwies.

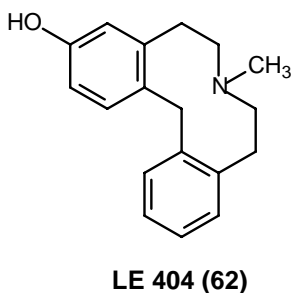
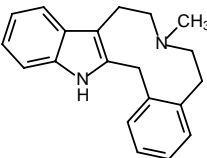
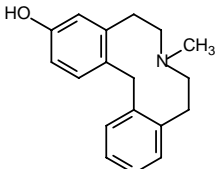


Abb. A.8: Hochaffiner Dopaminantagonist **LE 404 (62)**

Die K_i -Werte beider Strukturen, gewonnen durch Radioligandbindungsstudien und Calcium-Fluoreszenz-Messungen, zeigen deutlich die hohe Affinität zu den Dopaminrezeptor-Subtypen, wobei die Werte für **LE 404** sogar bis in den subnanomolaren Bereich reichen. Darüber hinaus ist bei **LE 300**, sowie bei **LE 404** eine leichte Selektivität zur D_1 -Rezeptor-Familie zu beobachten.

Strukturformel	Bezeichnung	Radioligand- Bindungsstudien K_i -Werte [nM]	Calcium-Assay K_i -Werte [nM]
	LE 300	$D_1: 4.9 \pm 1.6^a$ $D_2: 44.7 \pm 15.8^a$ $D_3: 30.4^c$ $D_4: 109 \pm 39^a$ $D_5: 7.5 \pm 0.3^a$	$D_1: 9.6 \pm 2.9$ $D_2: 19.0 \pm 11.7^b$ $D_3: -$ $D_4: -$ $D_5: 12.7 \pm 6.35^b$
	LE 404 (62)	$D_1: 0.39 \pm 0.22$ $D_2: 17.5 \pm 1.5^a$ $D_3: 47.5 \pm 24$ $D_4: 11.3 \pm 0.7^a$ $D_5: 1.5 \pm 0^a$	$D_1: 1.35 \pm 0.25$ $D_2: 33.5 \pm 17.0^b$ $D_3: -$ $D_4: -$ $D_5: 1.69 \pm 1.94^b$

Tab. A.2: K_i -Werte der Verbindungen **LE 300** und **LE 404 (62)**, gewonnen durch Radioligandbindungsstudien und Calcium-Fluoreszenz-Messungen

^{a)} Daten aus [Decker, 2001]; ^{b)} Daten aus [Höfgen, 2002]; ^{c)} Daten von Hoechst Marion Roussel GmbH

Als weitere Strukturvarianten wurden Oxa-Homologe des **LE 404** synthetisiert, die man als Dibenz[*g,j*]-1-oxa-4-azacycloundecene (**7**) bezeichnet. Auch diese von Wittig [Wittig, 2004] hergestellte Verbindungsklasse zeigte in Radioligandbindungsexperimenten hohe dopaminantagonistische Aktivität, woraufhin ebenfalls C-homologe Verbindungen synthetisiert wurden und noch werden [Enzensperger, 2005].

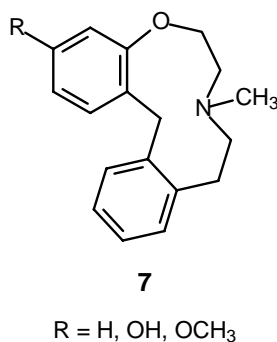


Abb. A.9: Oxa-Homologe (**7**) des **LE 404 (62)**

Das Ziel dieser Arbeit bestand in weitergehenden, strukturellen Variationen und in der Synthese neuartiger Liganden an den Dopamin-Rezeptor-Subtypen auf Grundlage der bislang affinsten aus unserem Arbeitskreis entwickelten Verbindung **LE 404** (s. Tab A.2). Dazu sollte das Substitutionsmuster der Dibenz[*d,g*]azecine (**8**) erweitert und die Affinität zu den Dopaminrezeptoren in Radioligandbindungsstudien bzw. Calcium-Fluoreszenz-Messungen überprüft werden. Durch die Vielzahl neu erhaltener substituierter Dibenz[*d,g*]azecine (**8**) sollte das Aufstellen von Struktur-Wirkungs-Beziehungen ermöglicht werden, um so gezielte Aussagen bezüglich der eingeführten funktionellen Gruppen treffen zu können.

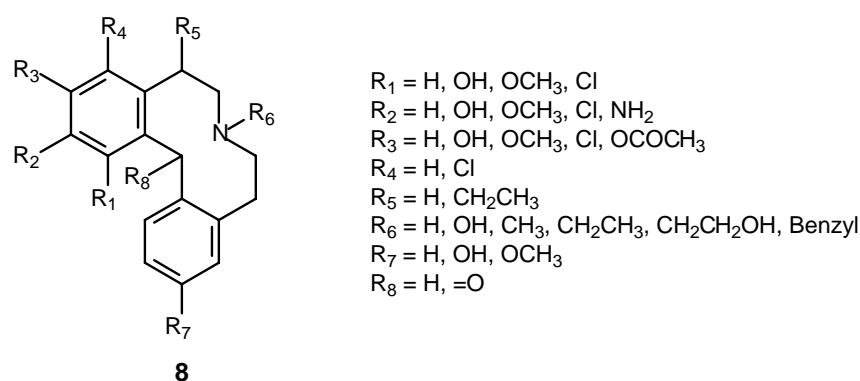


Abb. A.10: Neue substituierte Dibenz[*d,g*]azecine (**8**) auf Grundlage des **LE 404**

Des Weiteren sollten, der Strategie des „bivalent ligand approach“ folgend, dimere Dibenz[*d,g*]azecine mit unterschiedlich langen Alkylenspacern (**9**) synthetisiert werden. Hier erhoffte man sich potentielle bivalente Liganden an den Dopaminrezeptoren zu entwickeln, wie dies beim **LE 300** bereits durchgeführt wurde [Abadi, 2002]. In Abhängigkeit der Alkylenkette zeigten diese „Dimere“ zum Teil hohe Affinitäten an obigen Rezeptorsubtypen.

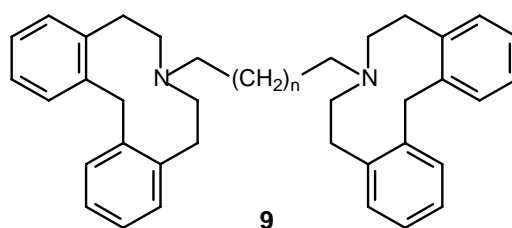


Abb. A.11: dimere Dibenz[*d,g*]azecine (**9**)

Weiterhin sollten Partialstrukturen der Dibenz[*d,g*]azecine in Form von N-substituierten 1,2,3,4-Tetrahydroisochinolin (**10**) hergestellt werden, um den Einfluss der Rigidität des Moleküls bzw. weitere Struktur-Wirkungs-Beziehungen feststellen zu können.

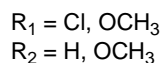
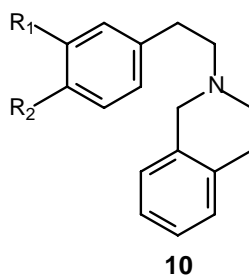


Abb. A.12: N-substituierte 1,2,3,4-Tetrahydroisochinoline (**10**) als Partialstruktur der Dibenz[d,g]azecine

Ebenfalls war es Ziel dieser Arbeit, bisherige Synthesewege zur Herstellung von Dibenz[d,g]azecinen zu optimieren. Dabei wurde ins Besondere nach neuen Spaltungsvarianten der benzylichen C-N-Bindung der Dibenzo[a,h]chinolizine gesucht, einer Vorstufe zur Darstellung der Dibenz[d,g]azecine. Auf diesem Weg sollten mehr und bessere Möglichkeiten geschaffen werden, in Abhängigkeit des Substitutionsmusters der zu synthetisierenden Azecine, die optimale Methode auswählen zu können.

Schließlich sollte eine Datenbank über kontinuierliche GC/MS-Messungen angelegt werden, um Dibenz[d,g]azecine bzw. Dibenzo[a,h]chinolizine aufgrund ihres Fragmentierungsmusters schnell identifizieren zu können. Hiervon versprach man sich eine effizientere Arbeitsweise, da so auch aus einem Reaktionsgemisch sofort Aussagen bezüglich der Umsatzrate eines Syntheseweges getroffen werden können.

B. Synthetischer Teil

B.1 Literaturbekanntes

Der Einstieg in die Synthese der Dibenz[*d,g*]azecine bestand in der Herstellung von Phenylisochinolin-Derivaten, die auf drei grosse Namensreaktionen zurückgeführt werden können. Zum einen die Bischler-Napieralski-Reaktion, die wohl wichtigste und am häufigsten verwendete Reaktion zur Herstellung substituierter Phenylisochinoline in dieser Arbeit und zum anderen das Pictet-Spengler-Verfahren, welches in einer abgewandelten Form die Grundlage für die von van Binst *et al.* [van Binst, 1975] für unsubstituierte Phenylisochinoline beschriebene Reaktion bildete (s. Kap. B.1.2). Die Pomeranz-Fritsch-Reaktion, die hier der Vollständigkeit wegen erwähnt werden soll, wurde aufgrund ungünstiger Ausgangsstoffe im Rahmen dieser Arbeit nicht weiter verfolgt.

Ein Ziel dieser Arbeit war es, auf der Basis dieser Reaktionen und der in den Kapiteln B.1.2-B.1.4 beschriebenen literaturbekannten Verfahren, eine Optimierung der schon durch Schweikert [Schweikert, 1999] beschriebenen Dibenz[*d,g*]azecine zu erreichen und die Synthese neuartiger Dibenz[*d,g*]azecine zu entwickeln, um weitere Erkenntnisse über Struktur-Wirkungs-Beziehungen an den Dopamin-Rezeptor-Subtypen erhalten zu können.

B.1.1 Grundlagen zur Herstellung von Phenylisochinolin-Derivaten

Die Bischler-Napieralski-Reaktion [Bischler, Napieralski, 1893] beschreibt die Isochinolinsynthese ausgehend von N-β-Phenylethylamiden (**11**), die bei hohen Temperaturen mit geeigneten Kondensationsmitteln, wie z.B. Phosphorpentoxid, zu 3,4-Dihydroisochinolin (**12**) zyklisieren. Die geringen Ausbeuten führten zu einer Reihe von Modifikationen, wie die Wahl milderer Kondensationsmittel und Temperaturen, die u.a. 1951 in einem Übersichtsartikel veröffentlicht wurden [Whaley, 1951].

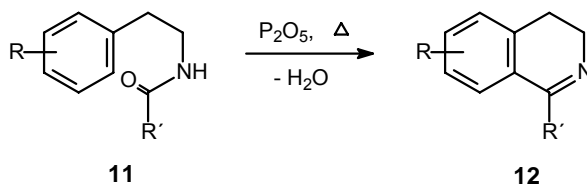


Abb. B.1: Darstellung von 3,4-Dihydroisochinolinen durch Bischler-Napieralski-Reaktion

Eine andere Möglichkeit der Isochinolinsynthese bietet die Pictet-Spengler-Reaktion [Pictet, Spengler, 1911]. Hierbei werden N-β-Phenylethylamine (**13**) mit Aldehyden (**14**) im stark saurem über Schiff'sche Basen (**15**) zu 1,2,3,4-Tetrahydroisochinolinen (**16**) umgesetzt.

Auch diese Synthese wurde durch zahlreiche Variationen der Reaktionsbedingungen optimiert und weiter entwickelt [Whaley, 1951].

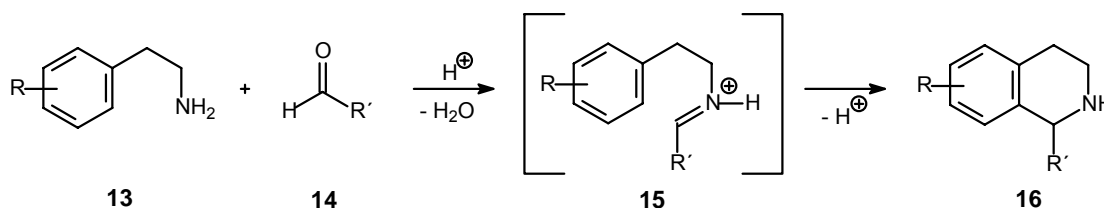


Abb. B.2: Darstellung von 1,2,3,4-Tetrahydroisochinolinen durch Pictet-Spengler-Reaktion

Die Pomeranz-Fritsch-Reaktion [Pomeranz, 1893][Fritsch, 1893] wurde dagegen ursprünglich als eine säure-katalysierte Zyklisierung von aromatischen Aldehyden mit Aminoacetalen zu Isochinolinen beschrieben. Schlittler und Müller [Müller, 1948] modifizierten diese Synthese dahingehend, dass Sie in einer säure-katalysierten Reaktion substituierte Benzylamine (17) mit Glyoxalsemiacetal (18) zu Schiff'schen Basen (19) umsetzten, die zum Teil nur in schlechten Ausbeuten zu Isochinolinderivaten (20) cyclisiert werden konnten. Hiermit gelang es andersartige Isochinoline herzustellen, die über die oben beschriebenen Wege aufgrund ungünstiger Substituenteneinflüsse schwer zugänglich waren [Walter, 1951].

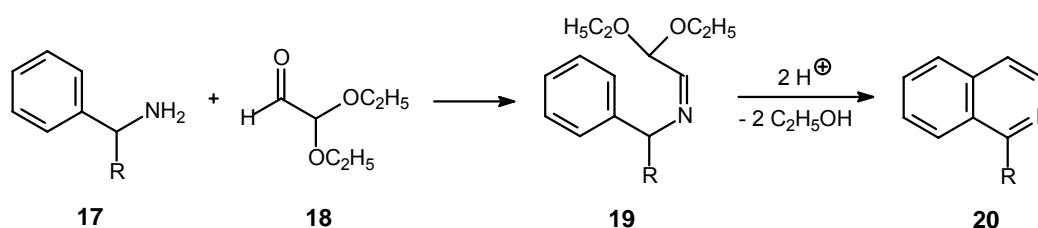


Abb. B.3: Darstellung von Isochinolinen durch Pomeranz-Fritsch-Reaktion

B.1.2 Synthese von Dibenzo[a,h]chinolizin über 1-Phenyl-3,4-dihydroisochinolin

Die oben beschriebenen Reaktionen hatten den Nachteil, dass Sie aktivierte Aromaten benötigten, um einen Ringschluss in passablen Ausbeuten zu ermöglichen. Die Darstellung des am Aromat unsubstituierten 1-Phenyl-3,4-dihydroisochinolins (23) gelang van Binst und Baert [Van Binst, 1975] durch eine Pictet-Spengler-artige Zyklisierung von Benzonitril (22) mit Phenylethylchlorid (21) in Gegenwart von Zinn(IV)chlorid als starke Säure. Als Zwischenstufe konnte ein Nitriliumsalz charakterisiert werden, welches auch ohne Aktivierung des Aromaten in guten Ausbeuten cyclisierte.

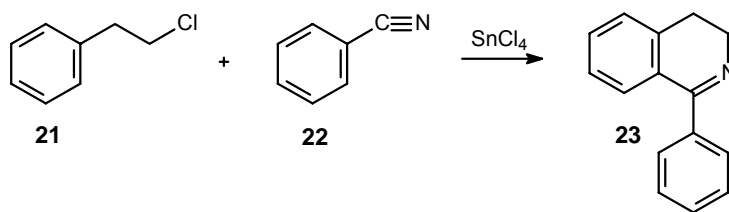


Abb. B.4: Darstellung des 1,2-Dihydroisochinolin nach van Binst und Baert

Die weitere Umsetzung des 1-Phenyl-3,4-dihydroisochinolins **23** zum Dibenzo[*a,h*]chinolizin **26** gelang Vlaeminck *et al.* [Vlaeminck, 1981] durch Reduktion zum 1-Phenyl-1,2,3,4-tetrahydroisochinolin **47** und anschließender Addition mit Ethylenoxid zum 2-(2-Hydroxyethyl)-1-phenyl-1,2,3,4-tetrahydroisochinolin (**24**). Aufgrund der Flüchtigkeit des Ethylenoxids und den dadurch aufwendigeren Reaktionsbedingungen modifizierte Schweikert [Schweikert, 1999] diesen Schritt, in dem er 1-Phenyl-3,4-dihydroisochinolin mit 2-Bromethanol quarternisierte (**25**) und anschließend durch Hydrierung ebenfalls zu **24** gelang. Die Zyklisierung von **24** in Polyphosphorsäure zum Dibenzo[*a,h*]chinolizin (**26**) erfolgte dann wieder nach Vlaeminck *et al.*.

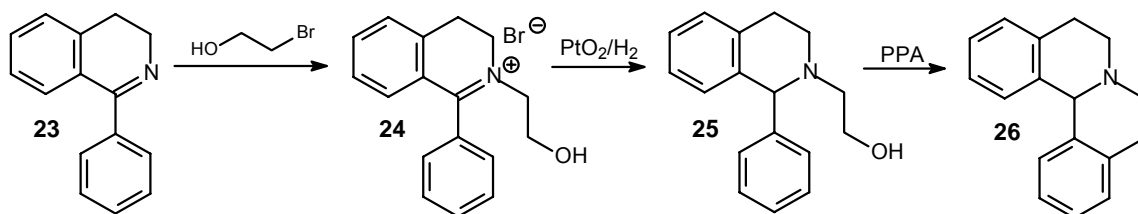


Abb. B.5: Darstellung des Dibenzo[*a,h*]chinolizins (**26**) nach Vlaeminck und Schweikert

B.1.3 Synthese von substituierten Dibenzo[*a,h*]chinolizinen über Hydroxybenzamide

Eine wichtige Variation der Bischler-Napieralski-Reaktion wurde von Meise *et al.* [Meise, 1976] entwickelt. Die Synthese der substituierten Dibenzo[*a,h*]chinolizine (**30**) gelang durch Aminolyse von β -Phenylethylaminen (**27**) mit Isochroman-1-onen (**28**) zu den entsprechenden Hydroxybenzamidinen (**29**). Anschließende Zyklisierung mit Phosphorylchlorid und Reduktion mit Natriumborhydrid führte zu **30**.

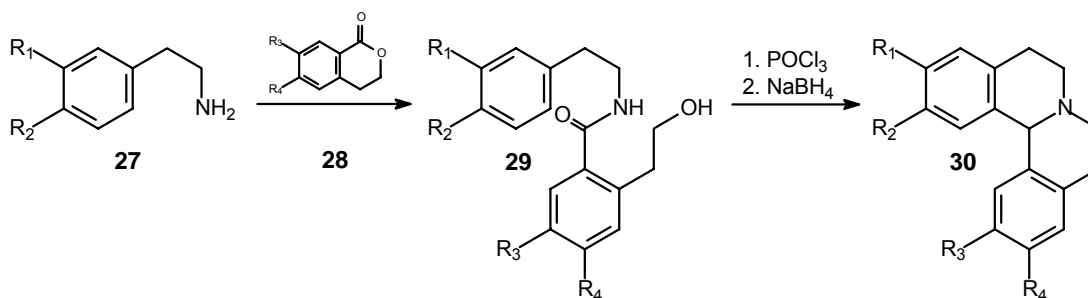


Abb. B.6: Darstellung von substituierten Dibenzo[*a,h*]chinolizinen (**30**) nach Meise

B.1.4 Synthese von Dibenz[*d,g*]azecinen durch Birch-Spaltung

Witt *et al.* [Witt, 1994 u. 2000] beschreibt die Synthese von **LE 300** durch Quarternisierung des Benz[*a*]indolo[2,3-*h*]chinolizins mit Methyljodid und anschließender Spaltung unter Birchbedingungen mit elementarem Natrium in flüssigem Ammoniak. Diese Spaltungsmethode wurde von Schweikert [Schweikert, 1999] auf die Synthese der Dibenz[*d,g*]azecine übertragen. Hierbei gelang es, die entsprechenden Dibenzo[*a,h*]chinolizine **31** mit Alkylhalogeniden zu quarternisieren (**32**) und die benzyliche Bindung ebenfalls unter Birch-Bedingungen mit Natrium in flüssigem Ammoniak zu Dibenz[*d,g*]azecinen (**33**) zu spalten.

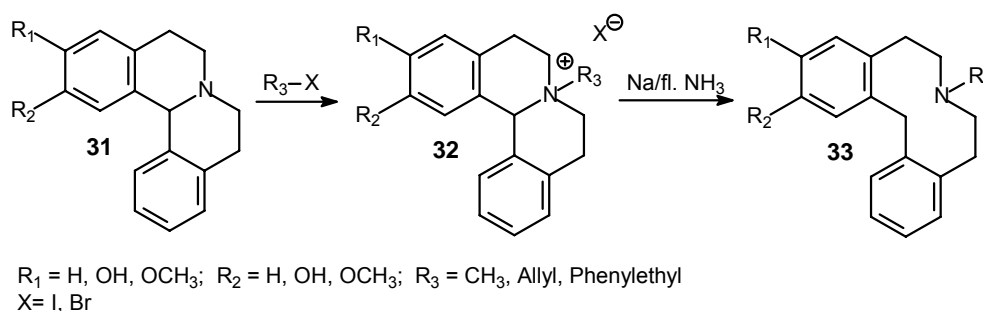


Abb. B.7: Darstellung von Dibenz[*d,g*]azecinen (**33**) nach Schweikert

B.2 Synthese von Dibenz[*d,g*]azecinen, die am Aromat keine Substitution aufweisen

Die Darstellung der in diesem Kapitel vorgestellten unsubstituierten Dibenz[*d,g*]azecine verläuft bis zur Stufe des Dibenzo[*a,h*]chinolizins **26** nach demselben Reaktionsweg. Dabei wurde im Wesentlichen die Synthesevorschriften von Schweikert [Schweikert, 1999] verwendet, die schematisch in Abb. B.8 dargestellt sind.

Die Darstellung von 1-Phenyl-3,4-dihydroisochinolin (**21**) gelang durch Zugabe von 2-Phenylethylchlorid (**21**) zu einer Schmelze aus Benzonitril (**22**) und Zinn(IV)chlorid. Weitere Aufarbeitung führte zu einem hellgelben, klaren Öl, welches allerdings nicht, wie früher beschrieben, verharzte [Schweikert, 1999]. Hierbei zeigte sich, dass auch mit großen Ansätzen (>100 g) Ausbeuten von ca. 50% erzielt werden konnten. Die anschließende Quarternisierung zu 2-(2-Hydroxyethyl)-1-phenyl-3,4-dihydroisochinoliniumbromid (**24**) mit 2-Bromethanol in trockenem Toluol gelang dann wieder wie bei Schweikert [Schweikert, 1999] beschrieben.

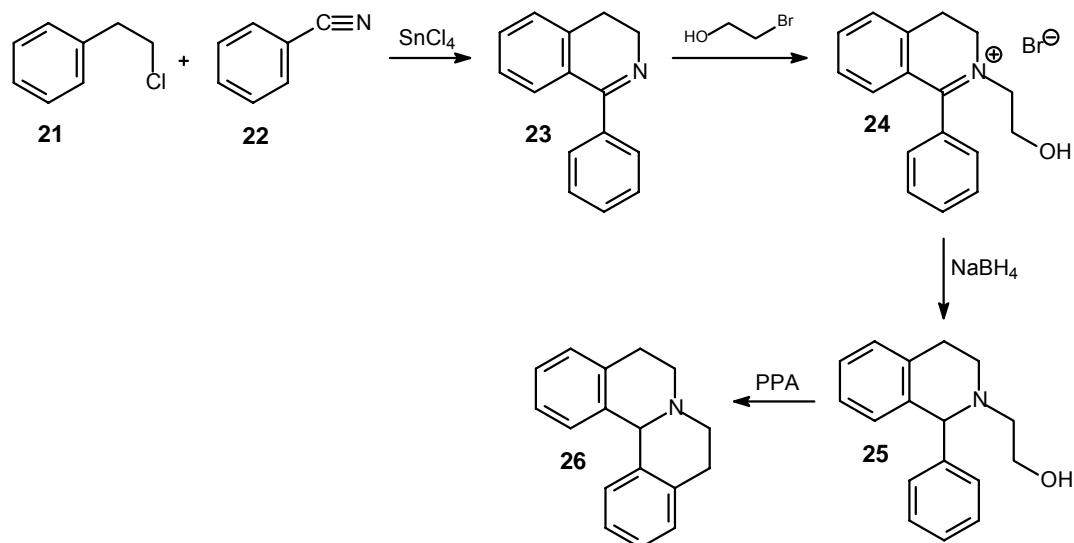


Abb. B.8: Syntheschema zur Darstellung des Dibenzo[a,h]chinolizins (**26**)

Die Hydrierung von **24** zum Hydroxyethylphenyl-tetrahydroisochinolin **25** mit Wasserstoff und Platindioxid wurde ersetzt durch eine Reduktion mit Natriumborhydrid, da hier bei gleichen Ausbeuten die Reaktionszeit und der apparative Aufwand erheblich reduziert werden konnten. Trotz eines eindeutigen ^1H -NMR-Spektrums, GC/MS-Spektrums und nachgewiesener Reinheit des Produkts **25** unterscheidet sich der erhaltene Schmelzpunkt von 80°C stark von den von Schweikert [Schweikert, 1999] und Vlaeminck [Vlaeminck, 1981] beschriebenen Schmelzpunkten von 71°C bzw. $69,5^\circ\text{C}$. Germani *et al.* [Germani, 1971], der in seiner Arbeit über Kondensationen von o-Benzoylphenylessigäuren beide Schmelzpunkte (69°C und $78\text{--}80^\circ\text{C}$) angibt, erklärt dies durch die Wahl unterschiedlicher Lösungsmittel zur Umkristallisation. Dabei soll eine Umkristallisation aus Cyclohexan zu dem tieferen Wert von 70°C führen. Da hier schon ein reines Produkt durch Abdampfen der organischen Phase erreicht werden konnte, wurde auf eine Umkristallisation verzichtet, was die höhere Schmelztemperatur erklären könnte.

Das ^1H -NMR von **25** (s. Abb B.9), aufgenommen in CDCl_3 , zeigt bei 4.65 ppm das durch Reduktion erhaltene Singulett des Methin-Protons und eine Einzelaufspaltung der Signale aller aliphatischen Protonen in acht Multipletts bei Werten zwischen 2.48 und 3.70 ppm. Die exakte Zuordnung gelang durch Aufnahme von ^{13}C - und ^{13}C - ^1H -COSY-Spektren, die in Abb. B.10-11 dargestellt sind, und über die geminalen Kopplungskonstanten der an einem C-Atom befindlichen Protonen, die 11, 12, 13 und 16.4 Hz betragen. Die Signale der aromatischen Protonen erscheinen zwischen 6.7 und 7.3 ppm überwiegend als Multipletts.

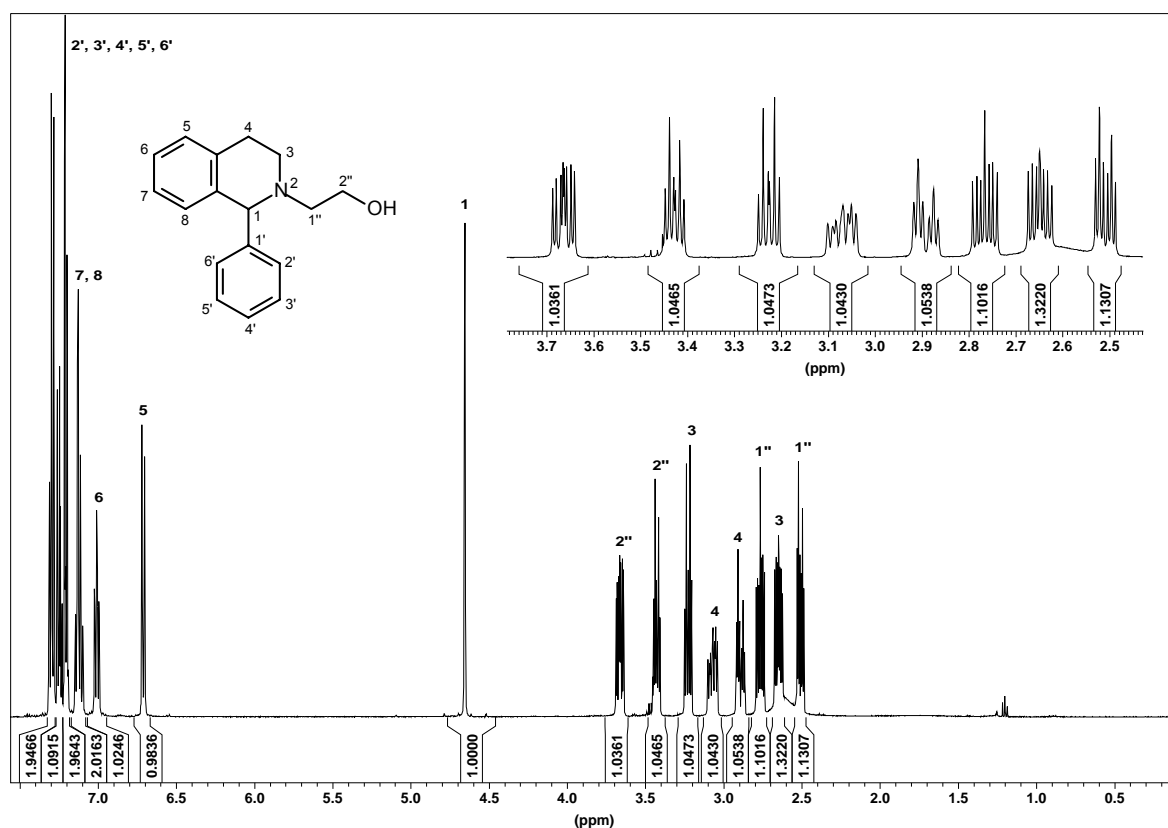


Abb. B.9: ^1H -NMR von 2-(2-Hydroxyethyl)-1-phenyl-1,2,3,4-tetrahydroisochinolin (CDCl_3) (25)

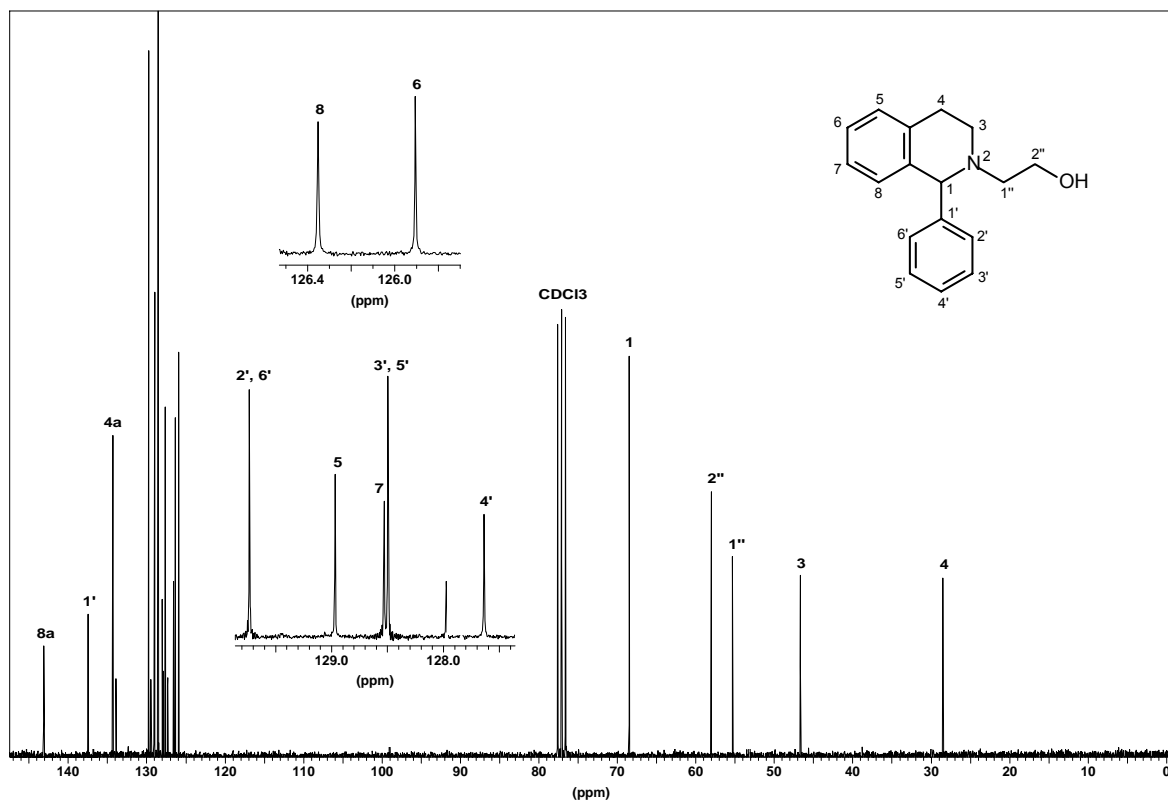


Abb. B.10: ^{13}C -NMR von 2-(2-Hydroxyethyl)-1-phenyl-1,2,3,4-tetrahydroisochinolin (CDCl_3) (25)

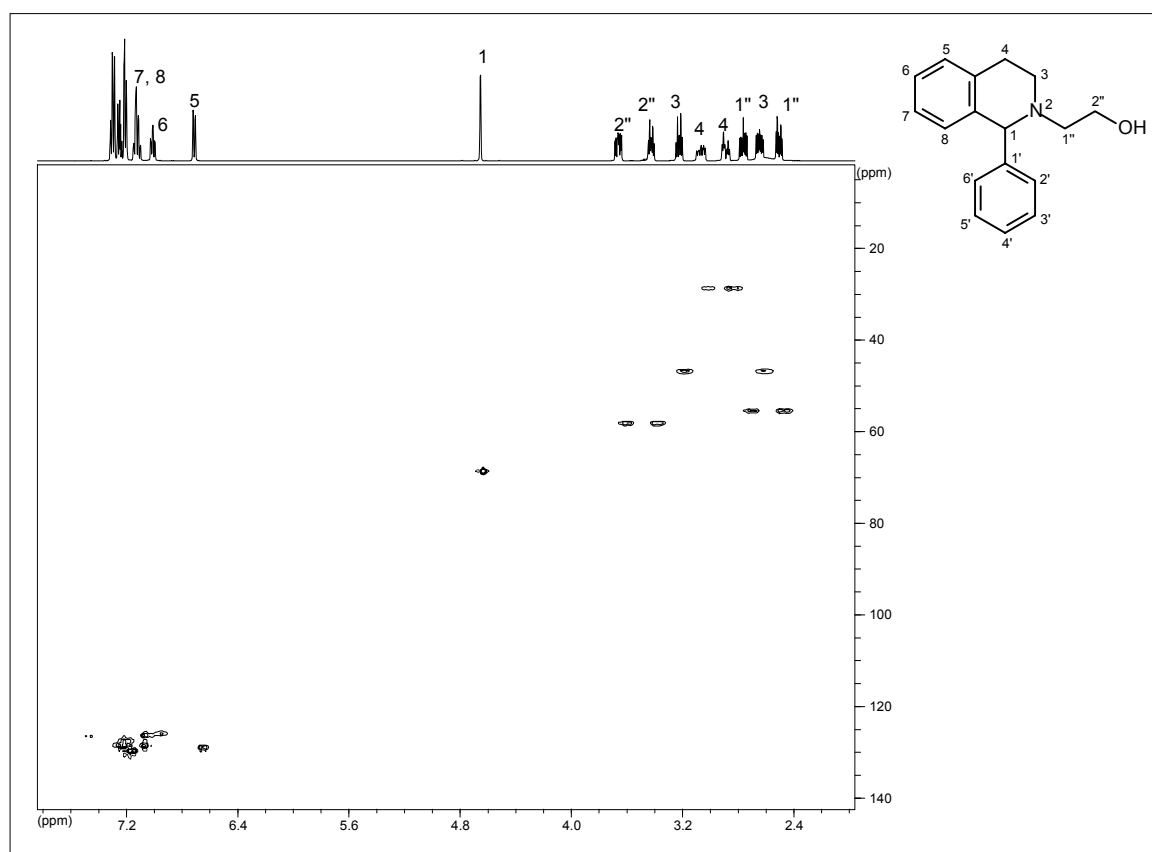


Abb. B.11: ^{13}C - ^1H -COSY von 2-(2-Hydroxyethyl)-1-phenyl-1,2,3,4-tetrahydroisochinolin (CDCl_3) (**25**)

Die Zyklisierung von **25** erfolgte dann wie beschrieben mit Polyphosphorsäure bei 160°C für 6h zum Dibenzo[*a,h*]chinolizin **26**. Das für die Dibenzo[*a,h*]chinolizine im ^1H -NMR typische Signal des Methinprotons bei 5.00-5.50 ppm erscheint hier bei 5.08 ppm als Singulett.

B.2.1 Syntheseversuche zur Herstellung von 5,6,7,8,9,14-Hexahydrodibenz[*d,g*]azecin

Bisher konnte die Darstellung der „NH-Verbindung“ 5,6,7,8,9,14-Hexahydrodibenz[*d,g*]azecin (**34**) (s. Kap. B.2.2), ausgehend von Dibenzo[*a,h*]chinolizin (**26**), im Arbeitskreis nicht realisiert werden.

Witt [Witt, 1994] versuchte durch Hydrogenolyse eines Bisindolochinolizins mit Pd/C (10%) in Eisessig bei erhöhtem Druck zu den analogen Bisindoloazecinen zu gelangen, konnte aber das gewünschte Produkt nicht erzielen. Ebenso misslang die Synthese eines N-Oxides des Chinolizins [Craig, 1970], welches dann unter Birchbedingungen mit Natrium in flüssigem Ammoniak hätte gespalten werden können [Yardley, 1973].

Rudolf [Rudolf, 1999] hoffte über eine N-Desalkylierung mit Chlorameisensäure-1-chlorethylester nach Koreeda *et al.* [Koreeda, 1984], ausgehend von dem Benzindoloazecin **LE 300**, zum analogen „NH-Azecin“ zu gelangen, konnte aber nur Edukt isolieren. Vielversprechender verlief die Synthese nach Calverley *et al.* [Calverley, 1986]. Aus dem

unsubstituierten Benz[a]indolo[2,3-*h*]chinolizin **35** konnte Rudolf das Urethan **36** bilden, welches durch Hydrogenolyse mit Pd/C (10%) das gewünschte Azecin **37** ergab. **37** zersetzte sich leider, so dass es nicht vollständig charakterisiert werden konnte.

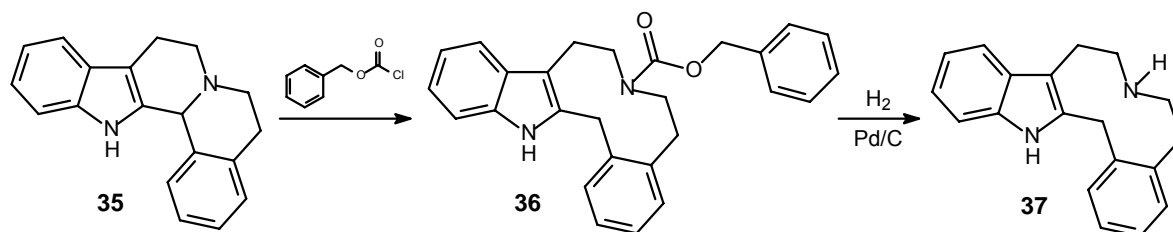


Abb. B.12: Darstellung der „NH-Verbindung“ (**37**) nach Rudolf

Anknüpfend an die Ergebnisse von Rudolf versuchte Schweikert diese Synthese auf das Dibenzochinolizin **26** zu übertragen. Auch hier gelang durch Umsetzung mit Benzylchloroformiat bei -70°C und anschließender Ringspaltung mit Natriumcyanoborhydrid die Bildung des analogen Urethans. Die Hydrogenolyse mit Pd/C führte aber zu keinem einheitlichen Produkt.

Lankow [Lankow, 2001] schließlich hydrierte das Benzindolochinolizin **35** mit Pd/C (10%) bei 5 bar 26 Tage lang, konnte aber durch GC/MS-Analytik nur höher hydrierte Produkte feststellen, die nicht isoliert werden konnten. Auch nochmalige Desalkylierungsversuche von **LE 300** mit anderen Reagenzien wie Vinylchloroformiat führten nicht zum Erfolg.

Andererseits gelang Huang diese Desalkylierung, wobei er **37** nicht isolierte, sondern sofort mit markiertem [¹¹C]-Methyliodid zum PET-Liganden [¹¹C]-**LE 300** methylierte. Wie Abb. B.13 zeigt, gelang durch diesen PET-Liganden die Verteilung der Dopamin (D₁, D₅)- und Serotoninrezeptor-Subtypen im Gehirn des Pavians zu visualisieren.

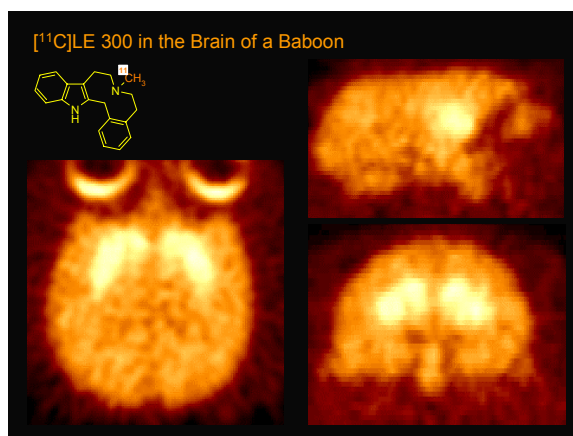


Abb. B.13: Verteilung von Dopamin (D₁, D₅)- und Serotoninrezeptor-Subtypen im Gehirn des Pavians, visualisiert durch den PET-Liganden [¹¹C]-**LE 300** [Huang, Lehmann, unveröffentlicht]

Unter Berücksichtigung der oben beschriebenen Ergebnisse wurde diese Problematik in vorliegender Arbeit aufgenommen und nach alternativen Verfahren gesucht, um doch noch die Herstellung und Reinisolierung der „NH-Verbindung“ zu erreichen.

Eine neue Überlegung war es, ein anderes Urethan zu bilden, um dieses dann leichter zu **34** reduzieren zu können. Nach einer Synthesevorschrift von Magnus *et al.* [Magnus, 1993], der die benzyliche Spaltung von Strychnin-Analoga beschrieb, wurde das Dibenzo[*a,h*]chinolizin (**26**) mit β,β,β -Trichlorethyl-chloroformat (TROC) in Dichlormethan bei Raumtemperatur 20 h zum Urethan **38** umgesetzt. Trotz säulenchromatographischer Reinigung konnte kein einheitliches Produkt erzielt werden. Die anschließende Reduktion des Gemisches mit Zinkstaub in Eisessig führte ebenfalls nicht zum erhofften Produkt **34**.

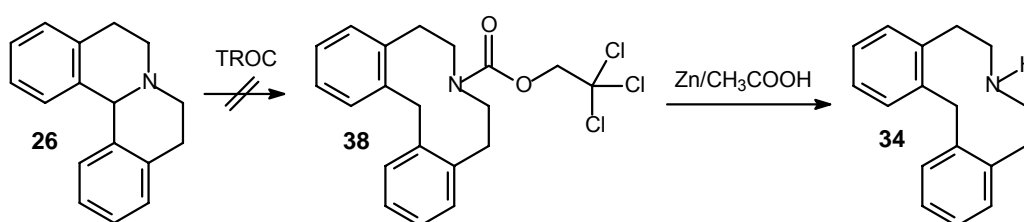


Abb. B.14: Syntheserversuch zur Darstellung von 5,6,7,8,9,14-Hexahydrodibenz[*d,g*]azecin (**34**)

Eine direkte Reduktion des Dibenzo[*a,h*]chinolizins **26** unter Birchbedingungen mit elementarem Natrium in flüssigem Ammoniak, was aufgrund der benzylichen Bindung der beiden Aromaten theoretisch möglich sein sollte, gelang weder durch Zugabe von Ethanol als Protonendonator, noch durch Verlängerung der Reduktionszeit auf 60 min.. Durch GC/MS-Kontrolle konnte in allen Fällen nur Edukt **26** detektiert werden.

Die Spaltung eines Chinoliziniumssalzes **62** unter Birchbedingungen, welches in Kapitel B.3.1 beschrieben wird, führte ebenfalls nur zum entsprechenden Chinolizin.

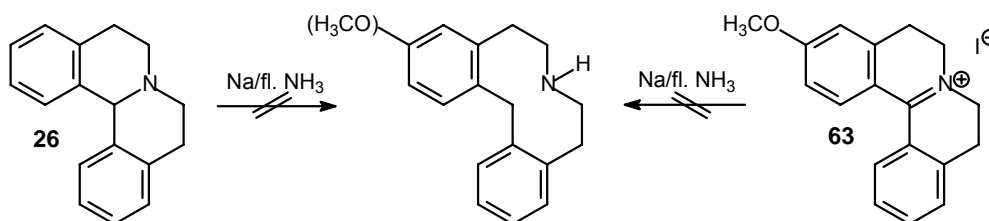


Abb. B.15: Syntheserversuche zur Darstellung von 5,6,7,8,9,14-Hexahydrodibenz[*d,g*]azecin-Derivaten

B.2.2 Synthese von 5,6,7,8,9,14-Hexahydrodibenz[*d,g*]azecin und 5,8,9,14-Tetrahydrodibenz[*d,g*]azecin-7(6*H*)-ol

Da die im vorigem Kapitel beschriebenen Syntheseveruche ebenfalls nicht zu realisieren waren, wurde nochmals ein Weg über ein N-Oxids (**39**) diskutiert, welches mit Natrium in flüssigem Ammoniak zu spalten sein sollte. Wie schon bei Witt beschrieben, wurde nach einer Vorschrift von Craig [Craig, 1970] das Dibenzo[*a,h*]chinolizin **26** bei 0°C tropfenweise mit einer *m*-Chlorperbenzoesäure-Lösung umgesetzt und über basischen Aluminiumoxid gereinigt. Das N-Oxid **39** konnte in 56%iger Ausbeute rein isoliert werden. Die quartäre Salzstruktur konnte anhand des Schmelzpunktes bestätigt werden, der von 75°C des Edukts (**26**) auf 151°C ansteigt. Ebenso erkennt man im ¹H-NMR eine Tieffeldverschiebung des Signals der Methingruppe zwischen den Aromaten von 5.08 ppm des Edukts (**26**) auf 5.50 ppm des N-Oxids (**39**).

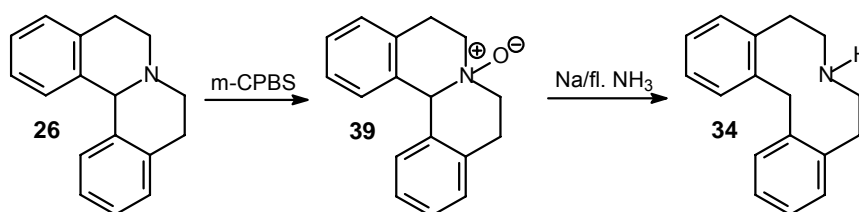


Abb. B.16: Darstellung von 5,6,7,8,9,14-Hexahydrodibenz[*d,g*]azecin (**34**)

Das N-Oxid **39** wurde nach Yardley [Yardley, 1973] mit Natrium in flüssigem Ammoniak weiter zur „NH-Verbindung“ (**34**) umgesetzt. Dieser Reaktionstyp, der als Birch-Reduktion bekannt geworden ist, beruht auf der Bildung von „solvatisierten“ Elektronen, die ursprünglich von Birch [Birch, 1950] zur partiellen Reduktion von Aromaten entwickelt wurde. Sie entstehen, wenn elementares Natrium mit flüssigem Ammoniak (bei ca. -40°C) versetzt wird. Ein Überschuss an solvatisierten Elektronen kann dabei an einer tiefblauen Färbung der Lösung beobachtet werden, die durch Zugabe von gesättigter Ammoniumchlorid-Lösung zerstört werden kann, was die Reaktion zum Erliegen bringt. So ist es möglich, je nach Substanz, eine beliebige Reaktionsdauer einzustellen, um die Bildung von Nebenprodukten zu minimieren, aber eine höchstmögliche Umsetzung zu erzielen.

Da laut Yardley ein Hydroxylamin (**40**, Abb. B.20) als Zwischenstufe gebildet werden sollte, schien die Gabe eines Protonendonors, wie Ethanol sinnvoll, um die weitere Reaktion zu **34** zu erleichtern. Trockenes THF erwies sich dabei als günstiger, da weniger höher hydrierte Produkte entstanden, die säulenchromatographisch nicht getrennt werden konnten. Durch GC/MS-Kontrolle konnte gezeigt werden, dass die Reaktionsdauer unter Birchbedingungen einen entscheidenden Einfluss auf die Produkte hatte, so dass bei längerer Reaktionszeit eine drastische Zunahme höher hydrierte Produkte zu beobachten war. Da, wie oben beschrieben, durch Natrium in Gegenwart von flüssigem Ammoniak freie Elektronen als

nucleophiles Agens gebildet werden, wurde vermutet, dass ein oder beide Aromaten partiell reduziert wurden.

Erst durch Verminderung der Reaktionszeit auf 20 Sekunden konnte in 20%iger Ausbeute **34** isoliert werden. Das Massenspektrum in Abb. B.17 zeigt den gewünschten Massepeak von 237 g/mol und das typische Fragmentierungsmuster eines Dibenz[*d,g*]azecins (näheres zur Fragmentierung siehe Kapitel B.10).

Abundance

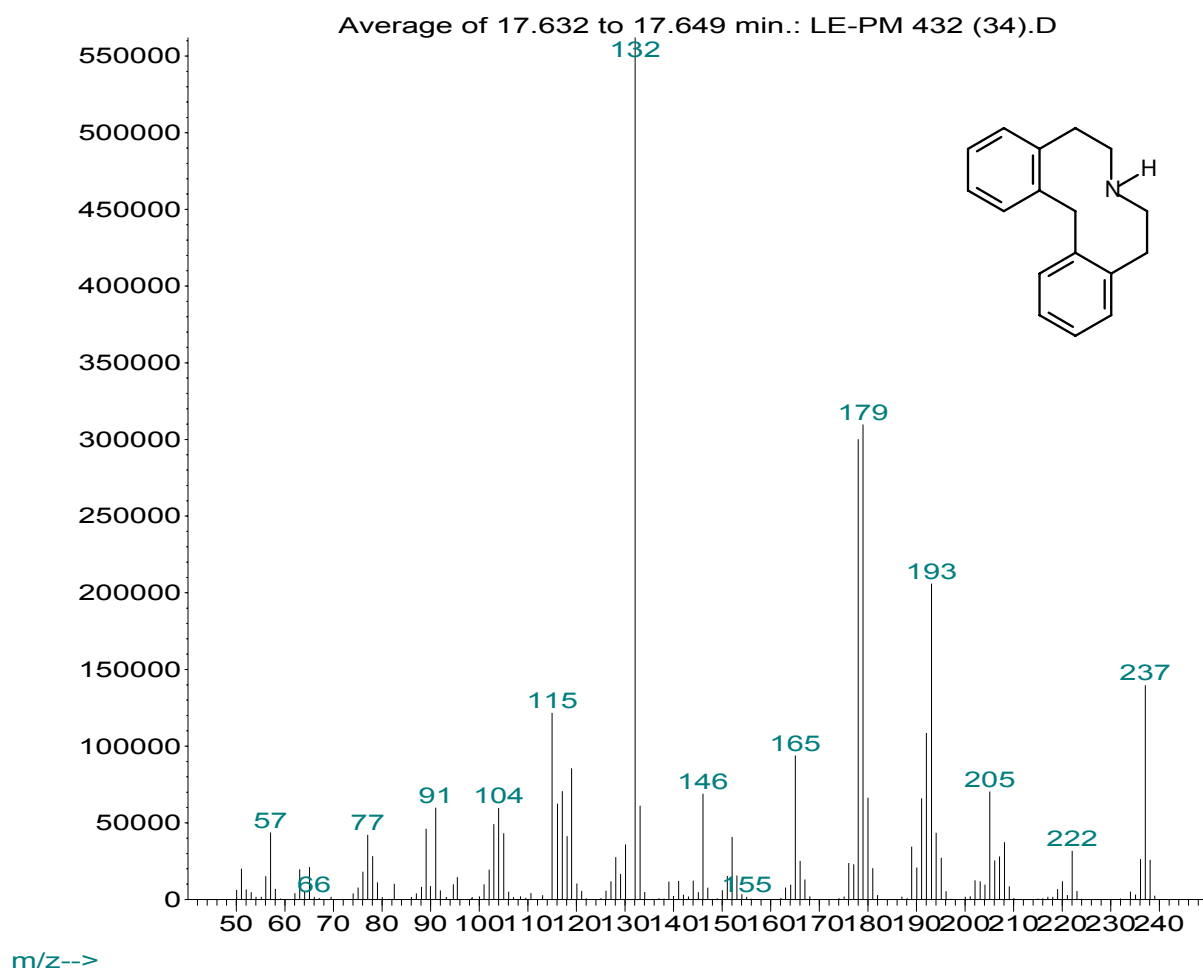


Abb. B.17: Massenspektrum von 5,6,7,8,9,14-Hexahydrodibenz[*d,g*]azecin (**34**)

Das ^1H -NMR, aufgenommen in $[\text{D}_6]$ -DMSO, zeigt aufgrund der Symmetrie des Moleküls ein einfaches Spektrum und das Signal der Methylengruppe zwischen den Aromaten zeigt die für Dibenz[*d,g*]azecine typische Hochfeldverschiebung auf 4.08 ppm. Auffällig ist die Tieffeldverschiebung zweier aromatischer Protonen, die bei 7.49-7.55 ppm erscheinen, während die Signale der übrigen sechs Protonen zu einem Multiplett zusammenfallen. Identifiziert wurden sie als H1 und H13 (s. Kap. B.6). Wie Schweikert anhand einer Röntgenstrukturanalyse von N-Methyl-dibenz[*d,g*]azecin (**44**) zeigen konnte (s. Abb. B.18), liegt das Molekül in einer käfigartigen Struktur vor, ist also nicht planar. Daraus lässt sich

vermuten, dass die meisten Protonen des einen Aromaten anteilig im hochfeldverschiebenden Ringstrombereich des anderen Aromaten liegen und umgekehrt, während die beiden Protonen H1 und H13, die sich im Molekül nach unten geneigt gegenüber liegen, eher in den tieffeldverschiebenden Bereich hineinragen.

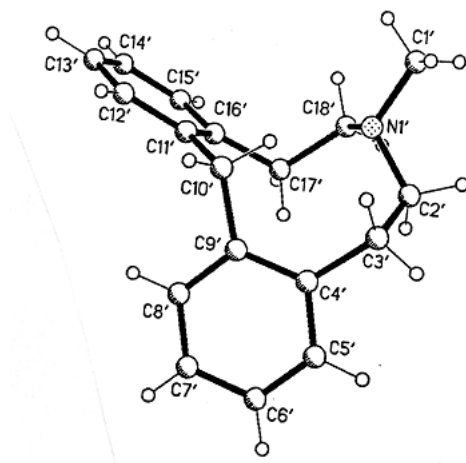


Abb. B.18: Röntgenstruktur von 7-Methyl-5,6,7,8,9,14-hexahydrodibenz[d,g]azecin (**44**)

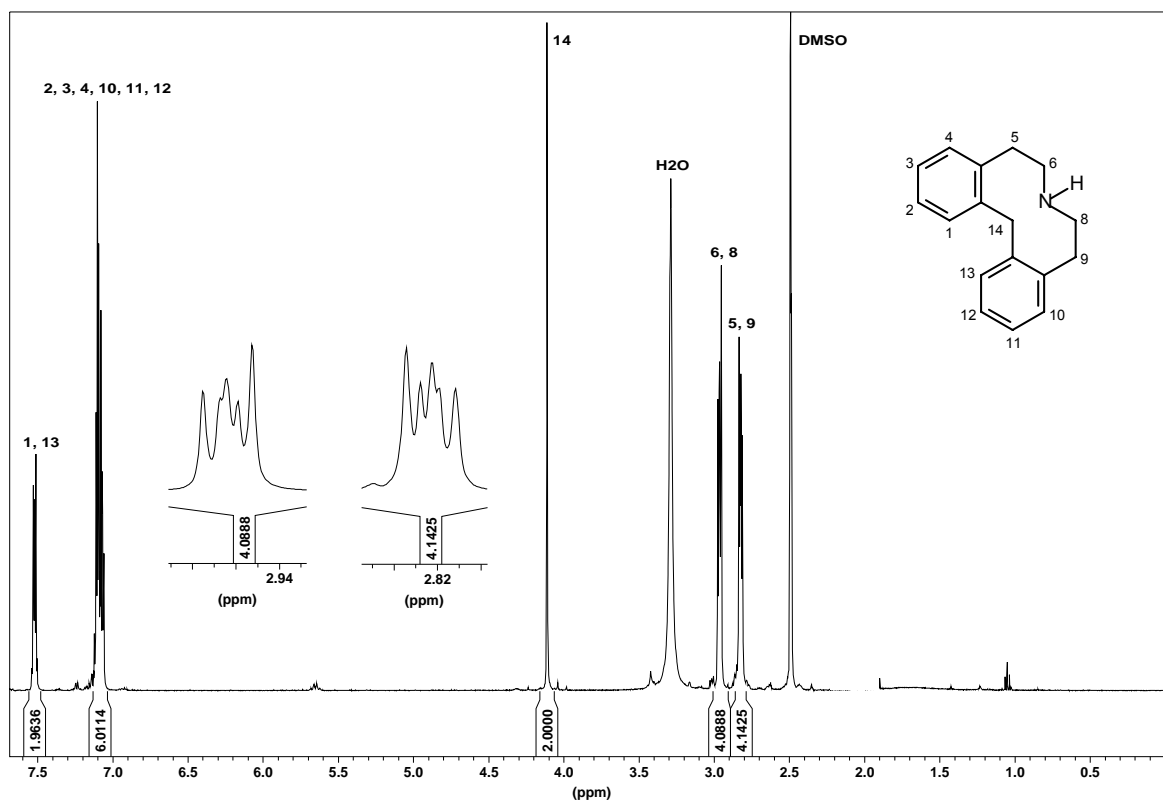


Abb. B.19: ^1H -NMR-Spektrum (500 MHz, $[\text{D}_6]$ -DMSO) von 5,6,7,8,9,14-Hexahydrodibenz[d,g]azecin (**34**)

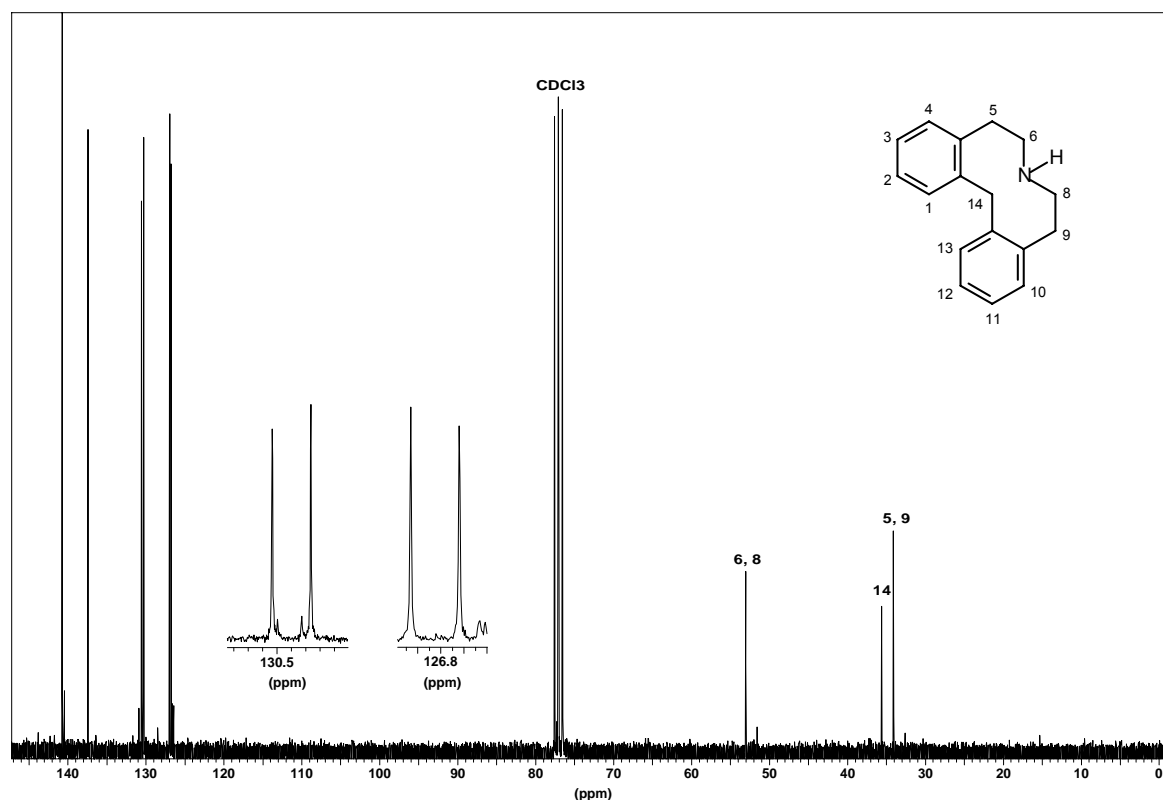


Abb. B.19a: ^{13}C -NMR-Spektrum (CDCl_3) von 5,6,7,8,9,14-Hexahydrodibenz[d,g]azecin (**34**)

Wie weiter oben schon erwähnt, beschrieb Yardley die Bildung eines Hydroxylamins als Intermediat, das durch geringere Mengen von Lithium bzw. Natrium und durch Verzicht eines Protonendonors isoliert werden konnte.

Da diese Substanz interessante pharmakologische Eigenschaften haben könnte, wurde die Isolierung eines analogen Hydroxylamins, des 5,8,9,14-Tetrahydro-dibenz[d,g]azecin-7(6H)-ol (**40**), angestrebt. Um einen Überschuss an Natrium, bzw. an „solvatisierten Elektronen“, während der Reaktion zu vermeiden, wurde eine größere Menge N-Oxid (**39**) eingesetzt. So konnte durch Gabe kleinster Mengen Natrium über einen Zeitraum von 10 min. die Reduktion zum sekundären Amin vermieden werden.

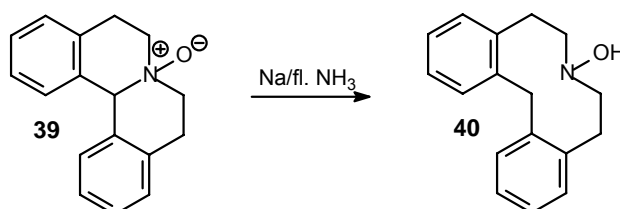


Abb. B.20: Darstellung von 5,8,9,14-Tetrahydrodibenz[d,g]azecin-7(6H)-ol (**40**)

Das ^1H -NMR von **40** (Abb. B.22), aufgenommen in $[\text{D}_6]$ -DMSO, zeigt im Wesentlichen das gleiche Spektrum wie **34**. Unterschiede zeigen sich in der erwarteten Tieffeldverschiebung durch den Einfluss der OH-Gruppe am Stickstoff. Besonders deutlich wird dies an den Signalen der zum Stickstoff benachbarten Methylengruppen, die sich von 2.94-2.99 ppm

(**34**) auf 3.10-3.20 ppm (**40**) verschoben. Des Weiteren ist ein Singulett bei 8.28 ppm zu beobachten, welches dem Signal der OH-Gruppe zuzuordnen ist. Um die Struktur von **40** weiter zu erhärten, wurde ein HMBC (Abb. B.23) aufgenommen. Auf diesem Spektrum werden alle Protonen sichtbar, die über zwei oder drei Bindungen mit einem Kohlenstoff koppeln können. Sollte das Singulett bei 8.28 ppm eine NH-Gruppe darstellen, müssten im HMBC an entsprechender Stelle zwei Signale erscheinen (durch die Symmetrie der Moleküle erscheinen die Signale der Kohlenstoffe C6/C8 und C5/C9 jeweils als ein Signal), da hier sowohl eine Kopplung über zwei Bindungen zu C6 und C8, als auch eine Kopplung über drei Bindungen zu C5 und C9 möglich ist. Da aber nur ein Signal zu sehen ist, kann es sich nur um die Kopplung der Hydroxylamin-Struktur handeln.

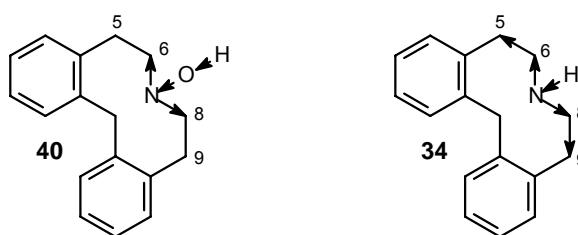


Abb. B.21: Kopplungsmöglichkeiten von **40** und **34** im HMBC.

Vergleicht man das HMBC mit dem HMQC (^{13}C - ^1H -COSY) (Abb. B.24), ist eine exakte Zuordnung aller C-H-Bindungen möglich. Im HMQC koppelt das OH-Signal wie erwartet nicht.

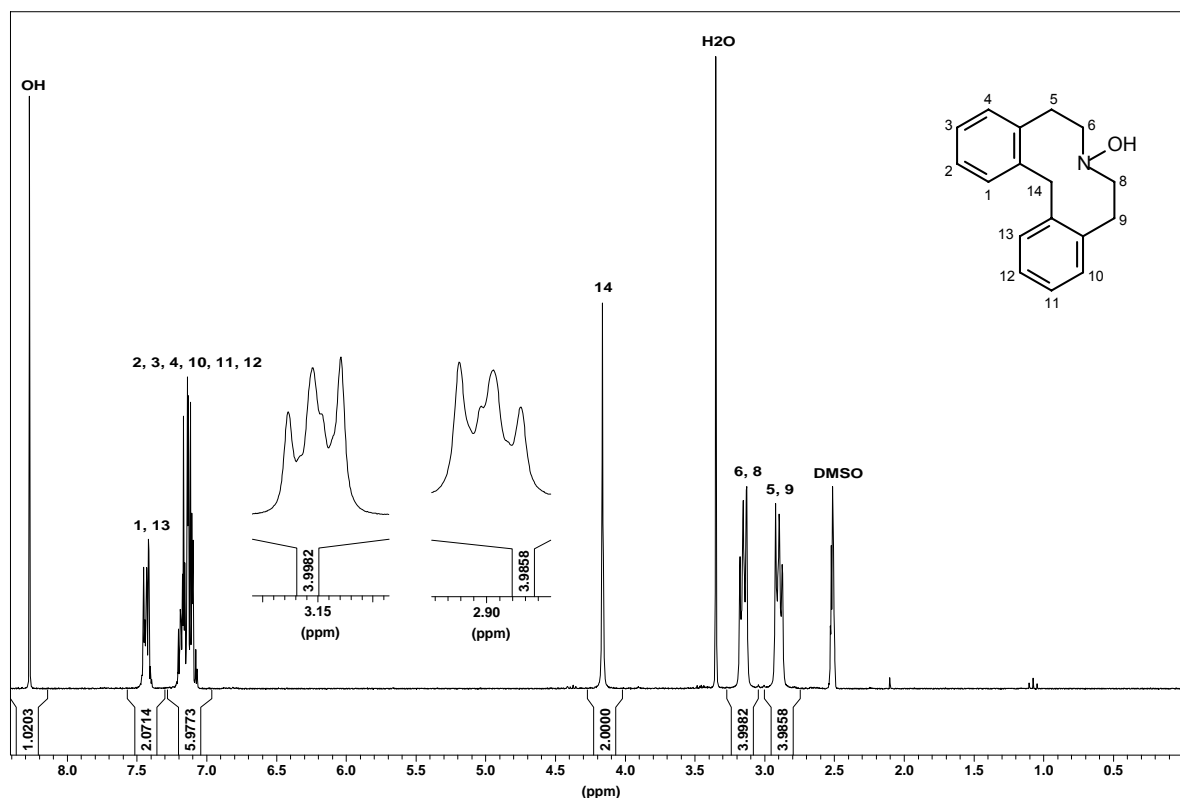


Abb. B.22: ^1H -NMR von 5,8,9,14-Tetrahydrodibenz[d,g]azecin-7(6H)-ol ($[\text{D}_6]$ -DMSO) (**40**)

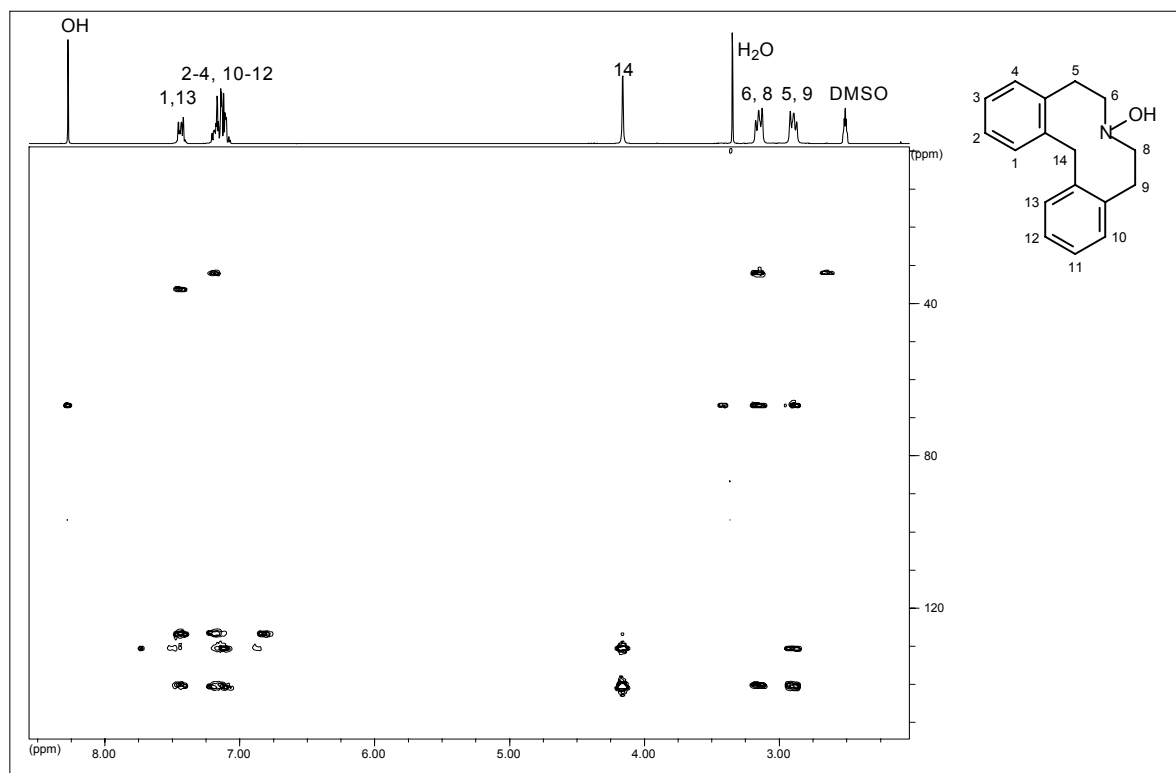


Abb. B.23: HMBC von 5,8,9,14-Tetrahydrodibenz[d,g]azecin-7(6H)-ol ($[D_6]$ -DMSO) (40)

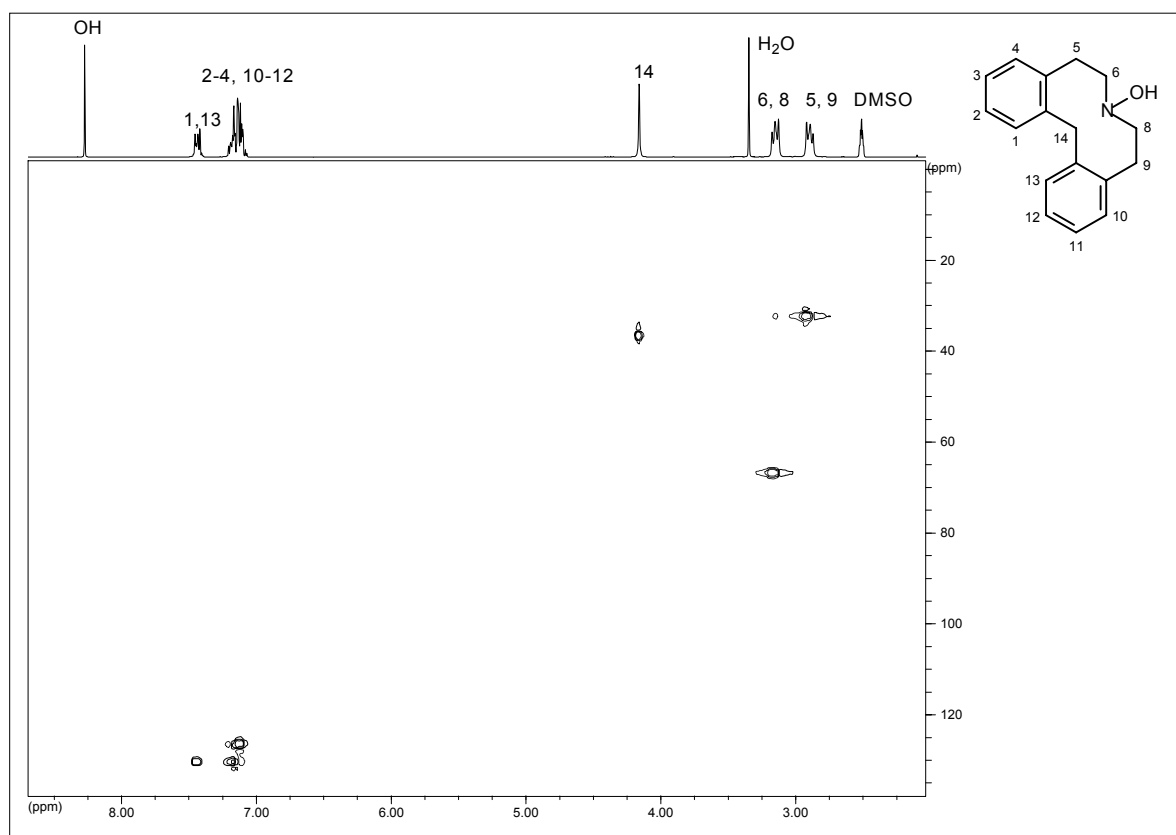


Abb. B.24: HMQC von 5,8,9,14-Tetrahydrodibenz[d,g]azecin-7(6H)-ol ($[D_6]$ -DMSO) (40)

B.2.3 Synthese von 7-Benzyl-5,6,7,8,9,14-hexahydrodibenz[*d,g*]azecin-Hydrochlorid

Durch das 5,6,7,8,9,14-Hexahydrodibenz[*d,g*]azecin (**34**) bestand die Möglichkeit, Substituenten einzufügen, die auf herkömmlichen Wege durch Quarternisierung des Benzo[*a,h*]chinolizins und anschließender Ringspaltung unter Birchbedingungen nicht zugänglich waren. Vor allem misslang die Einführung eines Benzylrestes am Stickstoff, da durch Quarternisierung des Benzo[*a,h*]chinolizins (**26**) mit Benzylbromid zu **41** und anschließender Birchreduktion nur Edukt **26** isoliert werden konnte.

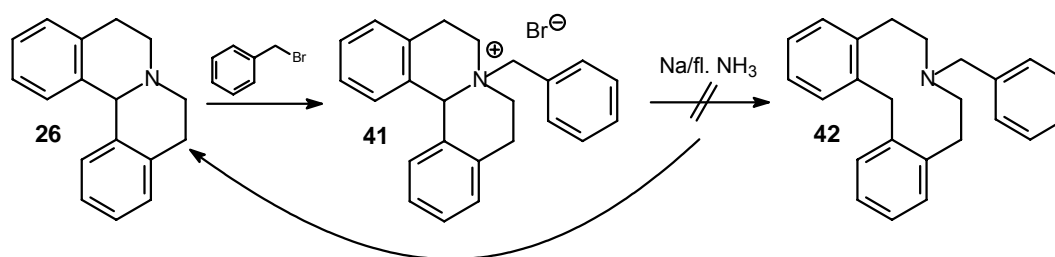


Abb. B.25: Syntheserversuch zur Herstellung von 7-Benzyl-5,6,7,8,9,14-hexahydrodibenz[*d,g*]azecin (**42**)

Setzt man dagegen 5,6,7,8,9,14-Hexahydrodibenz[*d,g*]azecin (**34**) mit Benzylbromid in Gegenwart von Kaliumcarbonat als Hilfsbase um, erhält man 7-Benzyl-5,6,7,8,9,14-hexahydrodibenz[*d,g*]azecin (**42**). Zur weiteren Aufreinigung wurde ein Hydrochlorid erstellt und umkristallisiert.

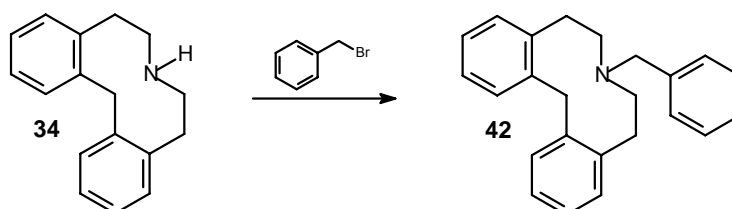


Abb. B.26: Darstellung von 7-Benzyl-5,6,7,8,9,14-hexahydrodibenz[*d,g*]azecin (**42**)

Die Struktur von **42** konnte massenspektrometrisch und durch ^1H -NMR-Daten gesichert werden. Charakteristisch zeigt sich im ^1H -NMR die Methylengruppe des Benzylrestes als Dublett bei 4.34-4.45 ppm. Die CH_2 -Gruppe zwischen den Aromaten erscheint, wie bei Dibenz[*d,g*]azecinen üblich, bei 4.05-4.24 ppm, hier aber durch geminale Kopplung ($J=15.3$ Hz) zum Dublett aufgespalten. Wie beim Azecin **34** beschrieben, erkennt man wieder im Aromatenbereich die Tieffeldverschiebung der Protonen H1 und H13.

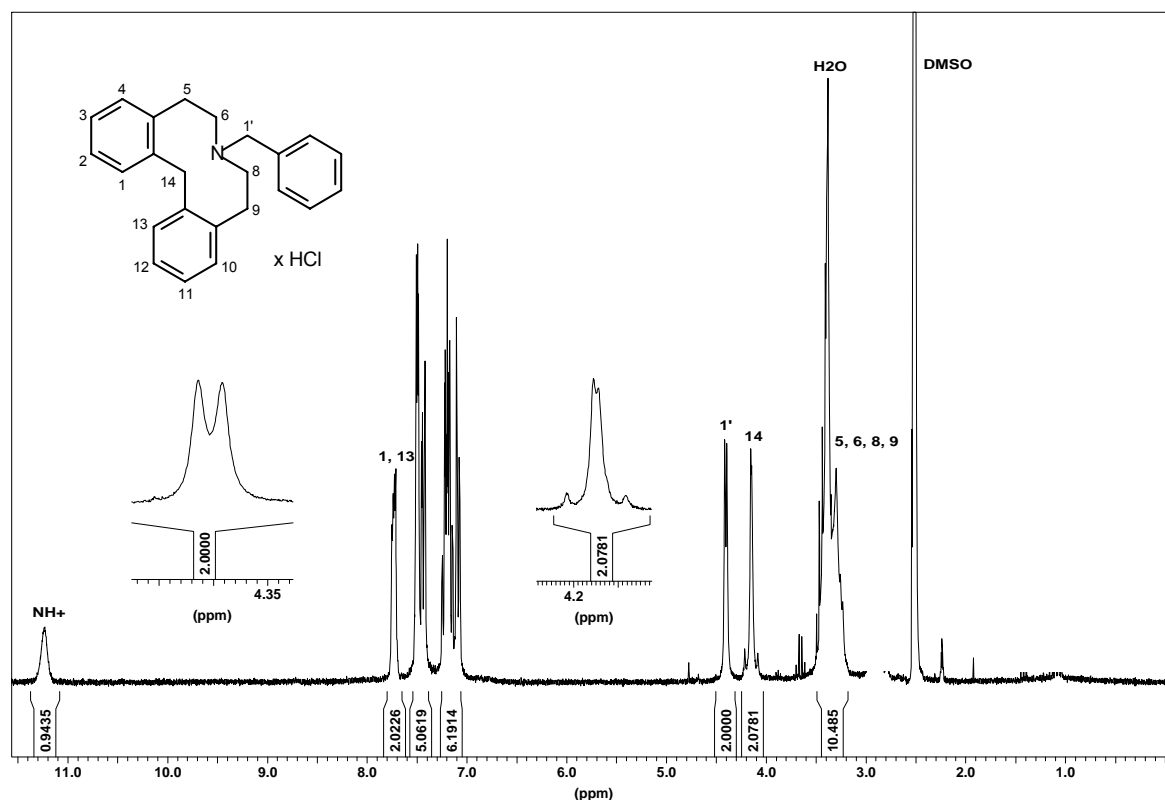


Abb. B.27: ^1H -NMR von 7-Benzyl-5,6,7,8,9,14-hexahydrodibenz[d,g]azecin ($[D_6]$ -DMSO) (**42**)

B.2.4 Synthese von 7-Methyl-5,6,7,8,9,14-hexahydrodibenz[d,g]azecin

Die Synthese von Dibenz[d,g]azecin **44** erfolgte, wie bei Schweikert beschrieben, durch Quarternisierung des Dibenzo[a,h]chinolizins **26** mit Methyljodid in trockenem Aceton unter Schutzgas zu **43** und anschließender Spaltung der benzylichen Bindung unter Birchbedingungen.

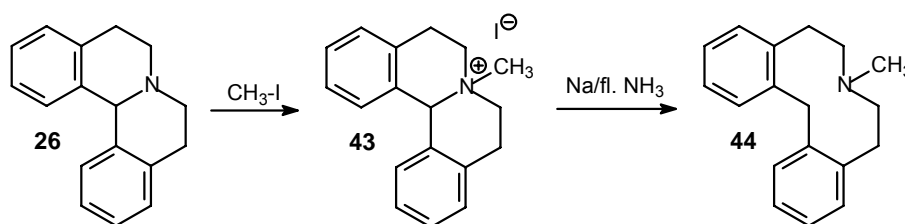


Abb. B.28: Darstellung von 7-Methyl-5,6,7,8,9,14-hexahydrodibenz[d,g]azecin (**44**)

Durch die Symmetrie des Moleküls fallen im ^1H -NMR die acht aliphatischen Protonen bei 2.5-2.7 ppm zu einem Signal zusammen. Ebenso lassen sich die vicinalen Kopplungskonstanten von $J = 9.1$ Hz aller aromatischer Protonen erklären.

Das Massenspektrum zeigt den erwarteten Molekülpeak bei 251 m/z und die typische Fragmentierung der Dibenz[d,g]azecine, auf die in Kapitel B.10 gesondert eingegangen wird.

B.2.5 Synthese von 7,7'-Butylen-bis-5,6,7,8,9,14-hexahydrodibenz[d,g]azecin und 7,7'-Pentylen-bis-5,6,7,8,9,14-hexahydrodibenz[d,g]azecin-Dihydrochlorid

Abadi *et al.* [Abadi, 2002] beschrieb die Synthese zweier **LE 300**-Einheiten, die am Stickstoff des Azecins über Alkylenbrücken verschiedener Länge miteinander verbunden sind. Dadurch konnten bivalente Dopaminrezeptor-Liganden entwickelt werden, die je nach Alkylenspacerlänge, K_i -Werte am hD_1 -Rezeptor bis zu 44 nM erreichten.

Die Methode, zwei Pharmakophore in einem Liganden zu vereinen, wurde erstmals von Halazy [Halazy, 1999] als „bivalent ligand approach“ bezeichnet und bestätigte sich in den Ergebnissen von Abadi *et al.*. Aus diesem Grunde erschien es sinnvoll, analoge Dimere aus Dibenz[d,g]azecin-Einheiten aufzubauen, um diese mit den Ergebnissen von Abadi *et al.* vergleichen zu können.

Dazu wurde das Dibenzo[a,h]chinolizin **26** mit 1,4-Diodbutan bzw. 1,5-Dibrompentan in Toluol unter Rückfluss zu **45** quarternisiert, wobei das Verhältnis von Chinolizin zu Dihalogenalkan 2:1 betrug. Trotz drastischerer Bedingungen, als normalerweise bei Dibenzo[a,h]chinolizin-Quarternisierungen angewandt wurden, konnten nur Ausbeuten um die 30% erreicht werden.

Die anschließende Spaltung der benzylichen Bindung mit Natrium in flüssigem Ammoniak (s. Kap. B.2.2) zu Dibenz[d,g]azecin-Dimeren (**46**) erfolgte ebenfalls nur in moderaten Ausbeuten von 30%.

Wittig [Wittig, 2004] synthetisierte, unter gleichen Bedingungen wie oben beschrieben, weitere Dibenz[d,g]azecin-Dimere mit Alkylenketten bestehend aus sechs bzw. sieben Methylengruppen.

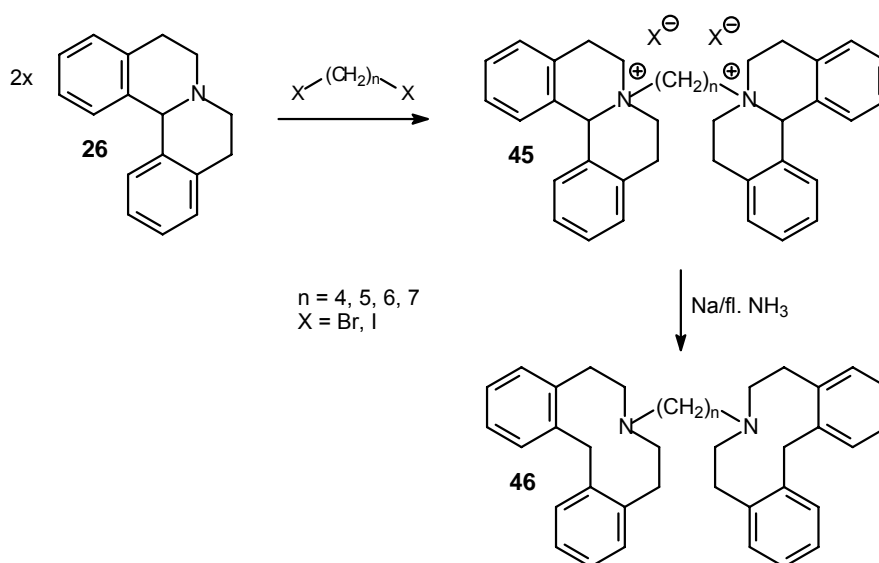


Abb. B.29: Darstellung von 7,7'-Alkylen-bis-5,6,7,8,9,14-hexahydrodibenz[d,g]azecinen (**46**)

Vergleicht man die ^1H -NMR-Daten der vier Dimere (**46**) mit den von Abadi *et al.* beschriebenen analog aufgebauten Dimeren (**47**), so stellt man ähnliche Hochfeldverschiebungen an den Alkylenspacern fest (s. Abb. B.30). Liegen die Werte der zum Stickstoff benachbarten Methylengruppe von **46** noch bei 2.1-2.3 ppm, so kommt es zu einer drastischen Verschiebung hin zu kleineren Werten, die bei einer Spacerlänge von fünf Methylengruppen mit 0.5 ppm am stärksten ausgeprägt ist. Bei den Dimeren **47** ist die Hochfeldverschiebung der Alkylprotonen aufgrund des unterschiedlichen aromatischen Ringsystems noch deutlicher zu erkennen. Auch hier wird der tiefste Wert von 0.1 ppm bei einer Spacerlänge von fünf Methylengruppen erreicht. Wittig und Abadi *et al.* erklären diese ungewöhnlich tiefen Werte mit einer möglicherweise „geknäulten“ Konformation der Moleküle, d.h. die aromatischen Bereiche liegen über den Alkylketten, so dass diese Ketten scheinbar noch im paramagnetischen Einfluss der Aromaten liegen.

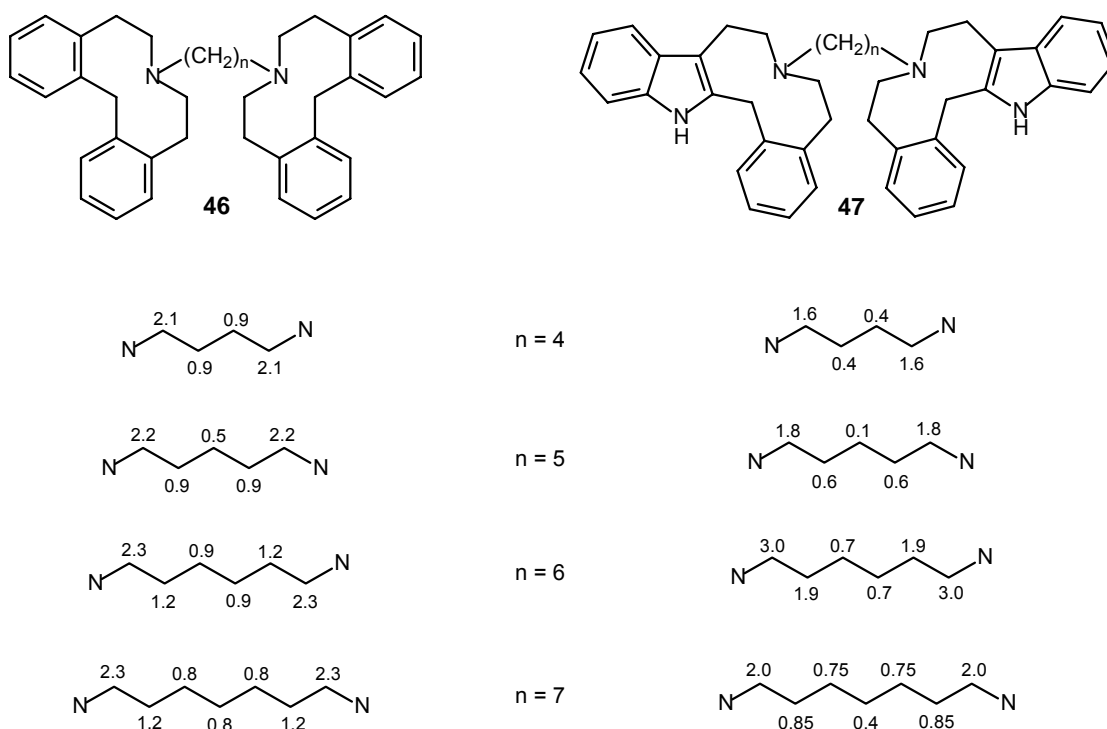


Abb. B.30: Vergleich der ^1H -NMR-Signale der Alkylketten der Dibenz[d,g]azecin-Dimere (**46**) und der Benz[d]indolo[2,3-g]azecin-Dimere (**47**)

Wie sich am Beispiel des ^1H -NMR- bzw. ^{13}C -NMR-Spektrums von 7,7'-Butylen-bis-5,6,7,8,9,14-hexahydrodibenz[d,g]azecin (**46**) (CDCl_3) zeigen lässt, beobachtet man bei den Azecin-Dimeren eine hohe Symmetrie des Moleküls, die sich über zwei Achsen erstreckt. Eine Achse führt dabei durch die Mitte des Alkylenspacers, während die andere jeweils zwischen den beiden Aromaten der Azecin-Einheiten verläuft. Dies äußert sich in einem recht einfachen Aufbau des ^1H -NMR-Spektrums, so dass z.B. die Alkylgruppen der Azecinringe mit 16 Protonen zu einem Signal bei 2.4-2.6 ppm zusammenfallen. Auch der

Aromatenbereich zeigt die typische Aufspaltung eines unsubstituierten Azecins, wobei 12 Protonen bei 6.9-7.1 ppm ein Multiplett bilden und die restlichen 4 Protonen die schon beobachtete Tieffeldverschiebung bei 7.15-7.22 ppm aufweisen (s. Kap. B.2.2). Im ^{13}C -NMR beobachtet man das Zusammenfallen von je 4 aromatischen Kohlenstoffen zu einem Signal.

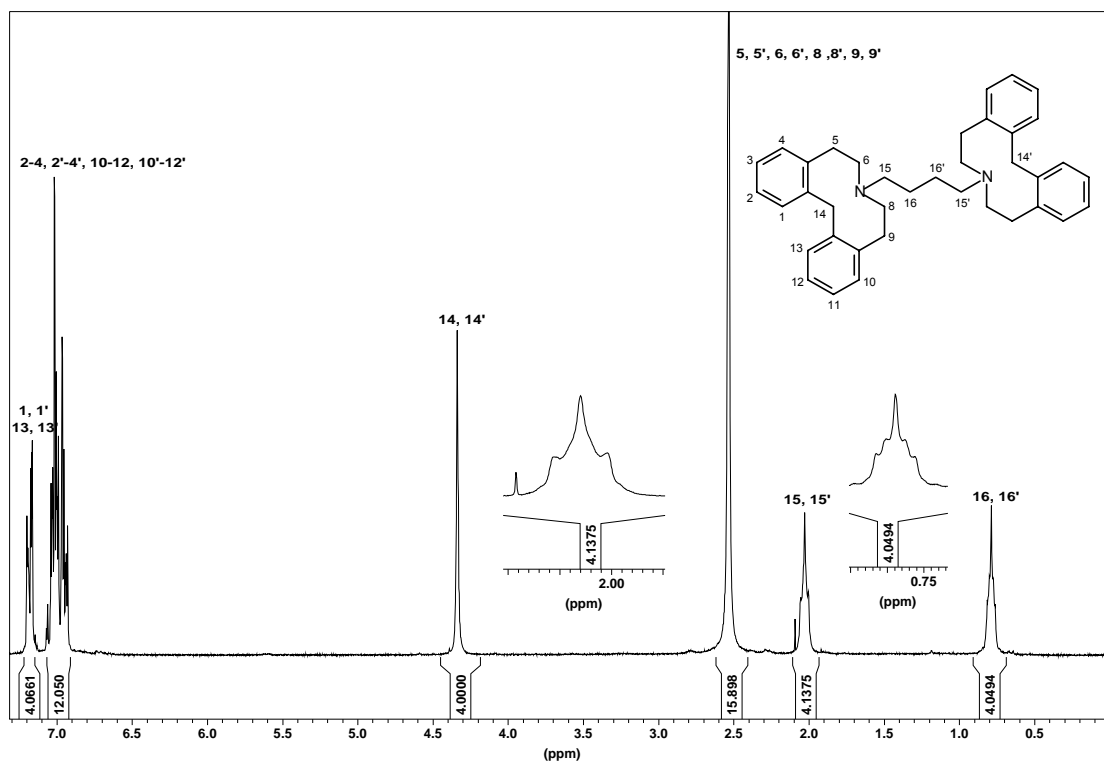


Abb. B.31: ^1H -NMR (CDCl_3) von 7,7'-Butylen-bis-5,6,7,8,9,14-hexahydrodibenz[d,g]azecin (**46**)

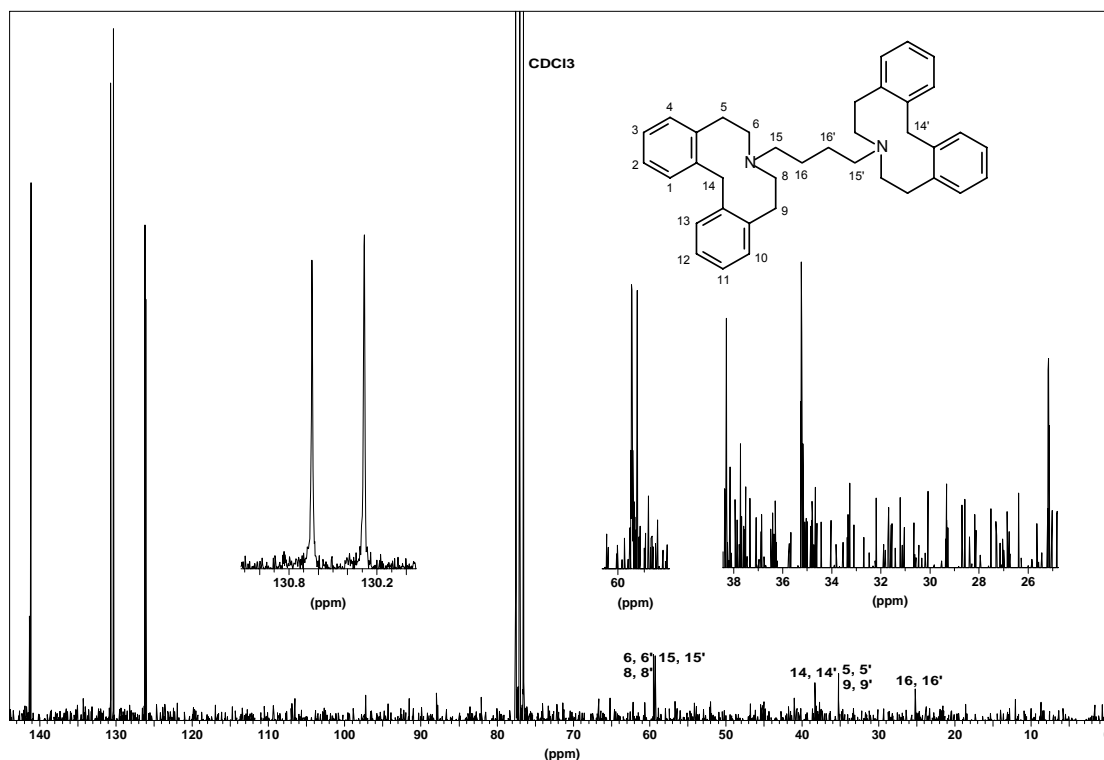


Abb. B.32: ^{13}C -NMR (CDCl_3) von 7,7'-Butylen-bis-5,6,7,8,9,14-hexahydrodibenz[d,g]azecin (**46**)

B.2.6 Synthese von 5-Ethyl-7-methyl-5,6,7,8,9,14-hexahydrodibenz[*d,g*]azecin-Hydrochlorid

Da bislang die Affinität an Dopamin-Rezeptoren nur an Dibenz[*d,g*]azecinen, die am Aromaten oder am Azecin-Stickstoff substituiert waren, untersucht wurde, schien es interessant, eine Alkylkette in den Azecin-Ring einzuführen. Hierdurch könnte sich aufgrund sterischer Effekte oder andersartiger Konformation des Moleküls die Affinitäten zu den Dopamin-Rezeptor-Subtypen ändern.

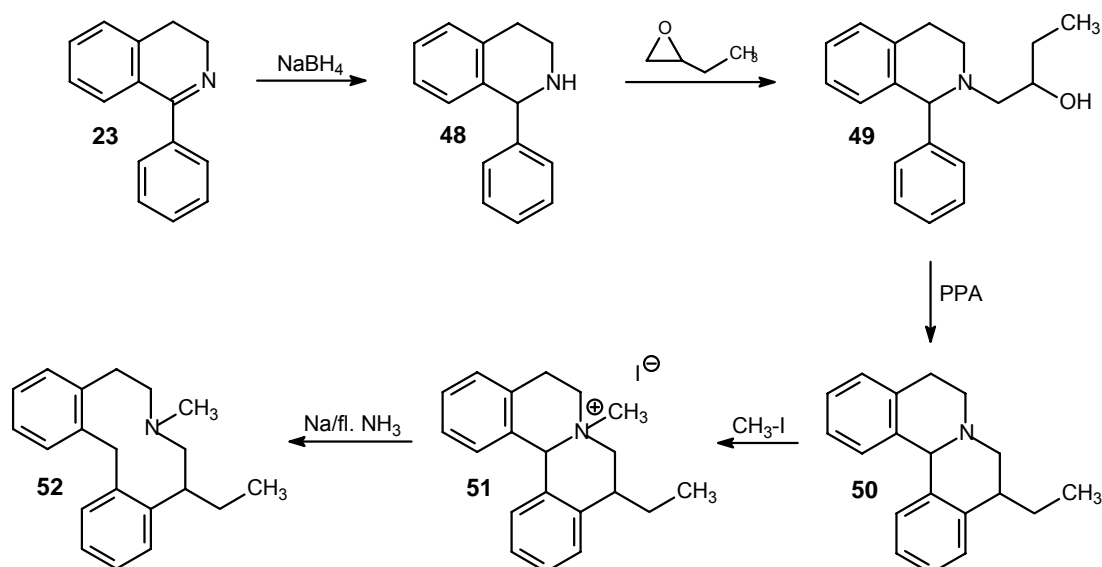


Abb. B.33: Darstellung von 5-Ethyl-7-methyl-5,6,7,8,9,14-hexahydrodibenz[*d,g*]azecin (**52**)

Um zu solchen Dibenz[*d,g*]azecinen zu gelangen, wurde der bisherige von Schweikert [Schweikert, 1999] beschriebene Weg weiter modifiziert. Die Synthese des 1-Phenyl-3,4-dihydroisoquinolins **23** verlief dabei analog Kapitel B.2, wurde aber im nächsten Schritt direkt mit Natriumborhydrid zu 1-Phenyl-1,2,3,4-tetrahydroisoquinolin (**48**) reduziert. Die weitere Umsetzung zu **49** mit 1,2-Epoxybutan bei Raumtemperatur gelang nach Vlaeminck *et al.* [Vlaeminck, 1981] in moderaten Ausbeuten von 20%. Da **49** zwei Chiralitätszentren besitzt und der Epoxidring sich zu beiden Seiten hin öffnen lässt, war die Bildung von acht Stereoisomeren denkbar (s. Abb. B.34). Im GC/MS konnten nur zwei Signale detektiert werden, die die Bildung von **49** neben **49A** vermuten lassen, da sich die Enantiomere auf einer achiralen Säule unter den gegebenen Bedingungen nicht trennen lassen. Die Isolierung eines diastereomerenreinen Produktes konnte nicht erreicht werden, so dass die Zyklisierung mit Polyphosphorsäure durch 6ständiges Erhitzen bei 160°C aus dem Gemisch erfolgen musste.

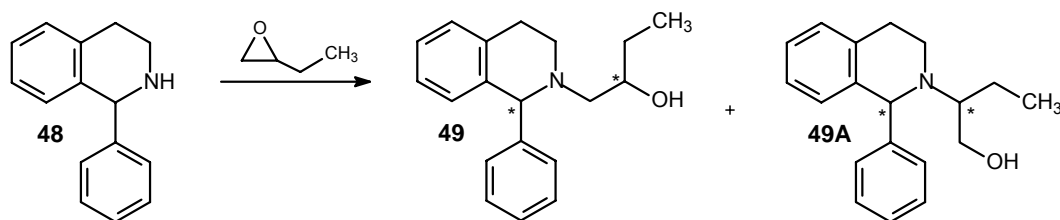


Abb. B.34: Denkbare Produkte bei der Umsetzung von 1-Phenyl-1,2,3,4-tetrahydroisochinolin (**48**) mit Epoxybutan

Daraus entstand ebenfalls ein Gemisch aus dem 5-Ethyl- und dem 6-Ethyl-Derivat im Verhältnis 60:40. Das Dibenzo[*a,h*]chinolizin **50** konnte dagegen durch säulenchromatographische Reinigung über Kieselgel 60 mit Ethanol als Elutionsmittel in 21%iger Ausbeute isoliert werden. Anschließende Quarternisierung mit Methyljodid in trockenem Aceton zu **51** und Birch-Reduktion mit Natrium in flüssigem Ammoniak für 26 Minuten führte schließlich zu dem Dibenz[*d,g*]azecin **52**. Trotz Bildung des Hydrochlorids mit etherischer HCl-Lösung und Umkristallisation konnte keine vollständig reine Substanz erzielt werden. Durch gaschromatographische Untersuchung wurde eine Reinheit von 98% festgestellt.

Um feststellen zu können, welches Chinolizin bei der Zyklisierung mit Polyphosphorsäure isoliert wurde, wurden am quartären Salz **51** verschiedene NMR-analytische Experimente durchgeführt, die bewiesen, dass das 5-Ethyl- und nicht das 6-Ethyl-Derivat bei der säulenchromatographischen Trennung erhalten werden konnte. Eine erste Zuordnung der einzelnen Protonen bzw. Kohlenstoffe der Substanz **51** gelang dabei durch Aufnahme eines HMQC (ein zweidimensionales ^{13}C - ^1H -Korrelationsspektrum) und eines ^{13}C -DEPT-Spektrums. Die eindeutige Charakterisierung der Signale der Ethylseitenkette inklusiv dem chiralen Proton gelang dagegen erst durch Aufnahme eines HMBC-Spektrums, bei dem alle Protonen, die mit einem über 2 und 3 Bindungen entfernten Kohlenstoff koppeln, ein Signal erzeugen.

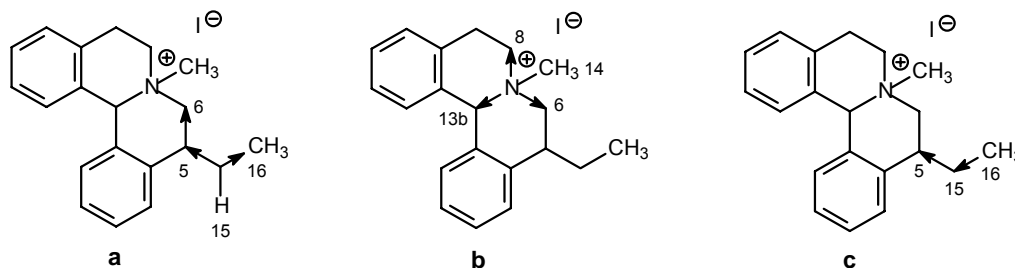


Abb. B.35: Kopplungsmöglichkeiten der Protonen H15 (a), H14 (b) und H16 (c) von 5-Ethyl-7-methyl-5,6,8,9-tetrahydro-13bH-dibenzo[*a,h*]chinoliziniumiodid (**51**) im HMBC

Abb. B.35 verdeutlicht die Kopplungsmöglichkeiten der Protonen H15 (**a**), H14 (**b**) und H16 (**c**). Diese Protonen können im ^1H -NMR ($[\text{D}_6]$ -DMSO) eindeutig zugeordnet werden, wobei die zwei Protonen H14 jeweils ein Multiplett bei 1.78 und 2.05 ppm, H15 ein Singulett bei 3.18 ppm und H16 ein Triplet bei 0.96 ppm erzeugen. Betrachtet man im HMBC ($[\text{D}_6]$ -DMSO) die Kopplungen dieser Protonen mit den jeweiligen Kohlenstoffen, ergeben sich folgende Werte:

- a)** H15: 9.8 ppm, 32.9 ppm und 62.9 ppm
- b)** H14: 51.1 ppm, 62.9 ppm und 68.5 ppm
- c)** H16: 25.0 ppm und 32.9 ppm

Durch ^{13}C -DEPT- und HMQC-Spektroskopie lässt sich das Signal im Hochfeld bei 9.8 ppm dem Kohlenstoff C16 und das Signal bei 25 ppm dem Kohlenstoff C15 zuordnen. Da H16 im HMBC nur eine Kopplung mit den Kohlenstoffen C15 und C5 eingehen kann, muss das Signal bei 32.9 ppm als das des chiralen Kohlenstoffs identifiziert werden. Im ^{13}C -DEPT-Spektrum erscheint dieses Signal als ein Signal eines aliphatischen Kohlenstoffes, welcher nur eine Bindung zu einem Proton besitzt und somit die oben genannte Zuordnung bestätigt.

Sollte es sich bei dem Chinoliziniumsalz **51** nicht um das 5-Ethyl-Derivat, sondern um das 6-Ethyl-Derivat handeln, müssten im HMBC die Protonen H14 der N-Methyl-Gruppe mit dem chiralen C-Atom bei 32.9 ppm koppeln. Da dies nicht geschieht, wie aus den Werten bei **b)** ersichtlich ist, kann es sich tatsächlich nur um das gewünschte Salz **51** handeln.

Ebenso lassen sich auf Basis dieser Zuordnungen die übrigen Protonen identifizieren, so dass z.B. das für Chinoliziniumsalze charakteristische Signal des Protons der Methin-Gruppe zwischen den Aromaten als Singulett bei 6.01 ppm erscheint und der dazugehörige Kohlenstoff ein Signal bei 68.5 ppm erzeugt.

Im ^1H -NMR-Spektrum (CDCl_3) des Azecin **52** erscheint das charakteristische Signal der Methylen-Gruppe zwischen den Aromaten nicht wie normalerweise bei Dibenz[*d,g*]azecinen zu beobachten ist, als ein Signal bei etwa 4.0-4.5 ppm, sondern beide Protonen spalten mit einer geminalen Kopplungskonstanten von $J = 13.9$ Hz zu jeweils einem Dublett bei 3.86 bzw. 4.43 ppm auf. Das Triplet der CH_3 -Gruppe der Ethylseitenkette liegt wie erwartet weit im Hochfeld bei 0.74 ppm und koppelt mit $J = 7.4$ Hz mit dem Signal der benachbarten Methylen-Gruppe bei 1.57 ppm, während das Signal des Protons am chiralen C-Atom tieffeldverschoben bei 3.29 ppm als Multiplett erscheint.

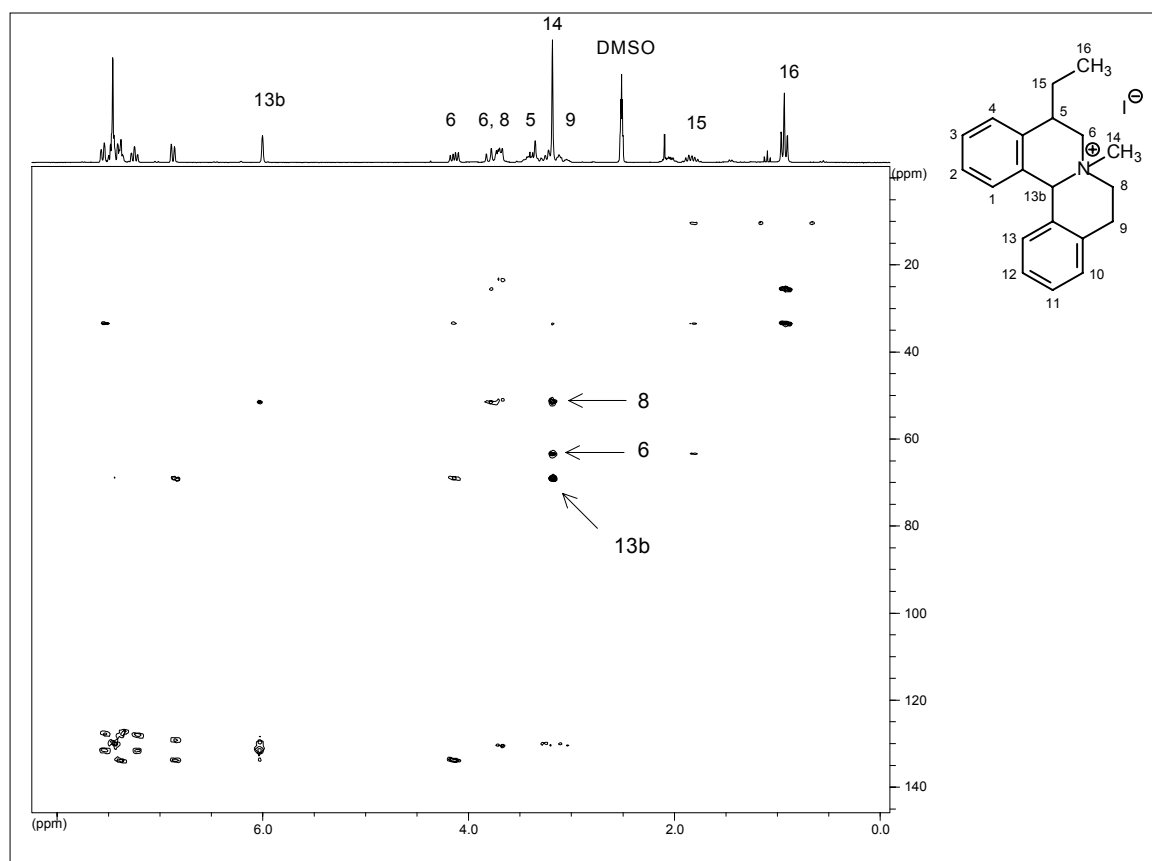


Abb. B.36: HMBC ($[D_6]$ -DMSO) von 5-Ethyl-7-methyl-5,6,8,9-tetrahydro-13bH-dibenzo[a,h]chinoliziniumiodid (**51**)

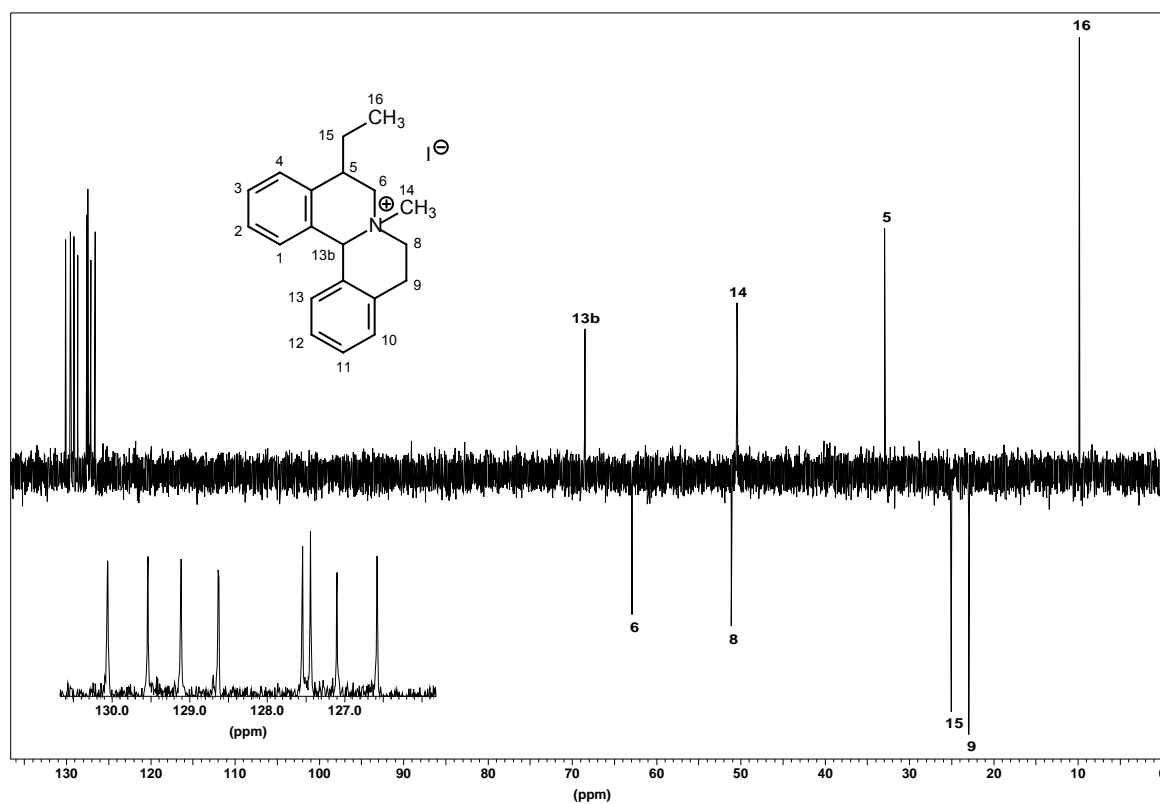


Abb. B.37: ^{13}C -DEPT ($[D_6]$ -DMSO) von 5-Ethyl-7-methyl-5,6,8,9-tetrahydro-13bH-dibenzo[a,h]chinoliziniumiodid (**51**)

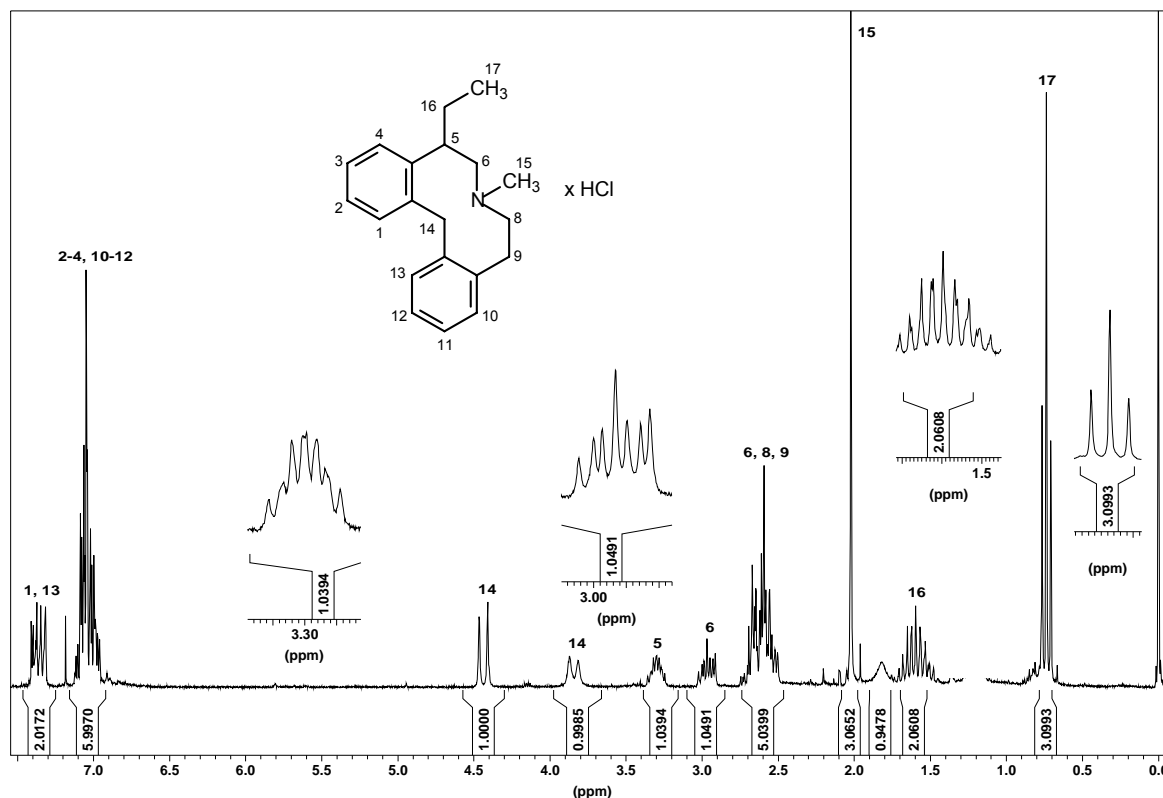


Abb. B.38: $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) von 5-Ethyl-7-methyl-5,6,7,8,9,14-hexahydrodibenz[d,g]azecin (**52**)

B.3 Synthese von 3-hydroxylierten und 3-methoxylierten Dibenz[d,g]azecinen

B.3.1 Synthese von 3-Hydroxy- und 3-Methoxy-7-methyl-5,6,7,8,9,14-hexahydro-dibenz[d,g]azecin-Hydrochlorid

Wie in Radioligandbindungsstudien gezeigt werden konnte, handelt es sich bei **LE 404** (**62**) [Schweikert, 1999] um einen am Dopaminrezeptor hochaffinen Liganden mit K_i -Werten für D_1 = 0,39 nM. Ziel war es, die Synthese hinsichtlich Ausbeute und einfacherer Wege zu verbessern und die Hydroxy- durch eine Methoxy-Gruppe zu ersetzen, um deren Einfluss auf die Affinität an den Dopamin-Rezeptoren zu untersuchen.

Die Darstellung der beiden 3-substituierten Dibenz[d,g]azecine gelang im Wesentlichen nach den bei Schweikert beschriebenen Methoden. Die Oxidation des Isochromans **53** zu Isochroman-1-on (**54**) wurde bislang mit Selendioxid unter Rückfluss durchgeführt [Witt, 1994]. Da dies eine recht aufwendige und toxikologisch nicht unbedenkliche Reaktion ist, wurde nach alternativen Verfahren gesucht. Klinkhammer [Klinkhammer, 2001] konnte erstmals nach einer Vorschrift von Markgraf *et al.* [Markgraf, 1999] das Isochromanon **54** durch Oxidation mit Kaliumpermanganat und TEBA (Triethylbenzylammoniumchlorid) als Phasentransferkatalysator darstellen, wodurch dieser Reaktionsschritt entscheidend

verbessert werden konnte. Durch Einsatz eines Ultraschallbades nach Mečiarova *et al.* [Mečiarova, 2000] und einer verbesserten Filtrationstechnik zur Abtrennung des anfallenden Braunsteins gelang es, die Methode nach Klinkhammer weiter zu optimieren, so dass große Mengen Isochroman leicht oxidiert werden konnten. Weder der Zusatz von Kupfersulfat [Mečiarova, 2000], noch zahlreiche Variationen des Lösungsmittels und der Reaktionsdauer konnten die Ausbeute von 70-80 % weiter erhöhen.

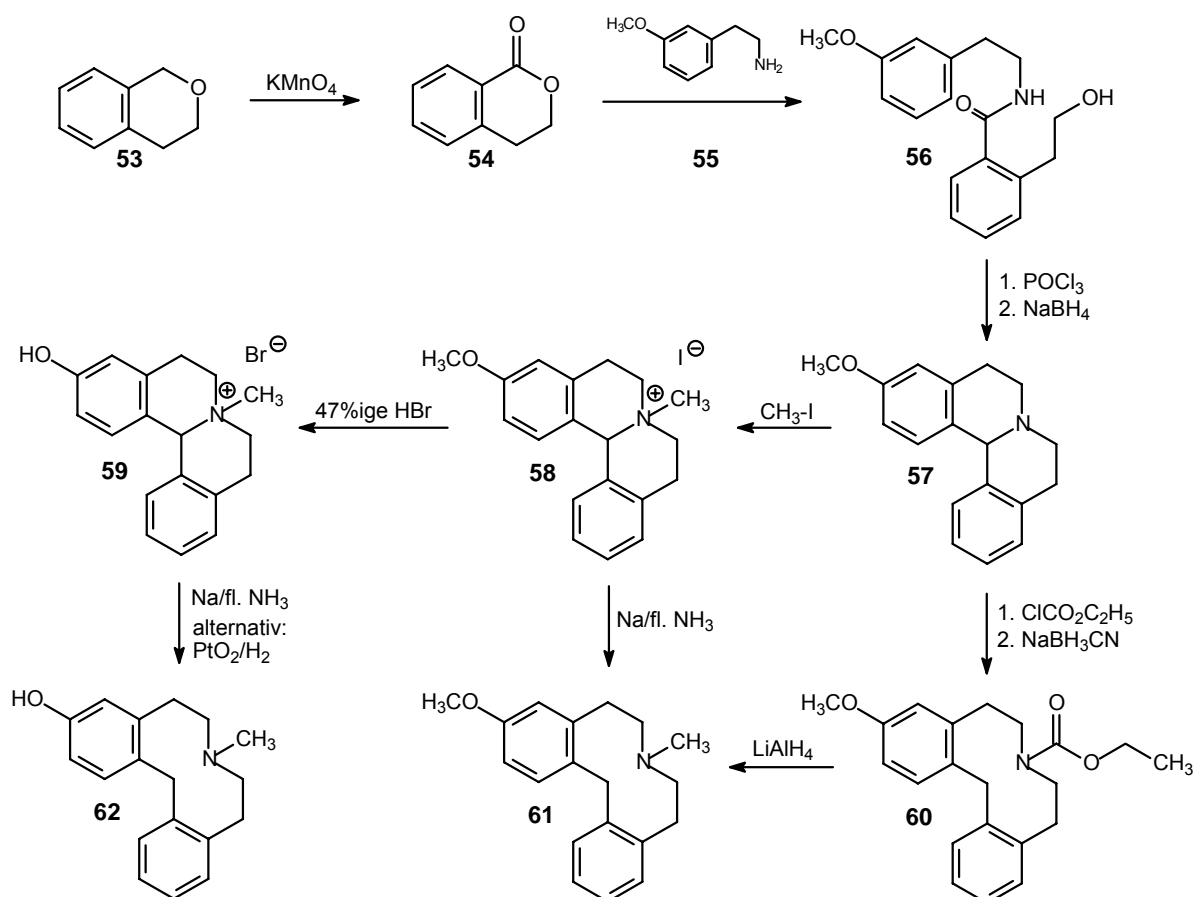


Abb. B.39: Darstellung von 3-Hydroxy- und 3-Methoxy-7-methyl-5,6,7,8,9,14-hexahydrodibenz[d,g]azecin (61+62)

Die Ausbeute der Aminolyse von Isochromanon (54) mit 3-Methoxyphenylethylamin (55) zum Hydroxyethylbenzamid 56 konnte durch Weglassen des Lösungsmittels [Meise, 1976] von 12% [Schweikert, 1999] auf 60% gesteigert werden. Die bei Meise beschriebene Reaktionszeit und Temperatur von 3 h bzw. 120°C führte dagegen nur zu Ausbeuten von 30% (57%, Meise). Erst nach 7 Tagen bei 70°C konnten ähnliche Ausbeuten erzielt werden. Auch die Zyklisierung von 56 zum Dibenzo[a,h]chinolizin 57 mit Phosphorylchlorid und anschließender Reduktion mit Natriumborhydrid erfolgte nach den bei Meise beschriebenen Methoden. Schweikert konnte zeigen, dass bei gleichen Reaktionsbedingungen von 3 h unter Rückfluss nur 13,5% von 57 erhalten wurden und nicht die von Meise beschriebenen 70%. Deshalb wurde die Reaktionsdauer auf 48 h erhöht, so dass 44% der gewünschten Substanz

57 erzielt werden konnte. Der Schmelzpunkt von 88°C stimmte trotz eines reinen $^1\text{H-NMR}$ und GC/MS nicht mit den von Meise angegebenen 74-75°C überein.

Wie bei Mika [Mika, 1985] beschrieben, konnte bei der Synthese des Dibenzo[*a,h*]chinolizins (**57**) als Zwischenprodukt ein Chinoliziniumsalz (**63**) isoliert werden, welches den dort postulierten Reaktionsmechanismus bestätigte.

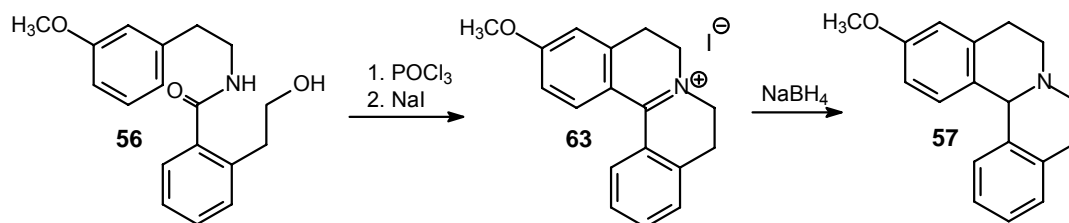


Abb. B.40: Darstellung des Dibenzo[*a,h*]chinoliziniumiodids (**63**) als Zwischenprodukt

Quarternisierung von **57** mit Methyljodid in trockenem Aceton zu **58** (s. Abb. B. 39) und anschließende Etherspaltung mit 47%iger HBr-Lösung führte zum quartären Hydroxy-chinoliziniumsalz **59**. Dies konnte, wie bei Schweikert beschrieben, durch Spaltung unter Birch-Bedingungen (s. Kap. B.2.2) zum 3-Hydroxy-7-methyl-5,6,7,8,9,14-hexahydro-dibenz[*d,g*]azecin (**LE 404**, **62**) umgesetzt werden. Alternativ gelang die Spaltung der benzylichen Bindung von **59** nach den Methoden von Emde und Kull [Emde, 1936] durch Hydrierung mit Wasserstoff und Platindioxid als Katalysator zu **62**. Im Kapitel B.9 wird auf diese Reaktion im Vergleich zu anderen Spaltungsmöglichkeiten gesondert eingegangen.

Die Darstellung des Methoxy-Derivats **61** gelang ebenfalls auf zwei unterschiedlichen Wegen. Die Birch-Reduktion von **58** mit Natrium in flüssigem Ammoniak führte in nur 20%iger Ausbeute zum erwünschten Produkt, da aufgrund zunehmender Nebenprodukte die Reaktion nach 8 min. abgebrochen werden musste. Durch säulenchromatographische Reinigung und Umkristallisation aus Ethanol/Ether konnte **61** rein erhalten werden.

Eine Alternative zur oben genannten Umsetzung konnte nach Enzensperger [Enzensperger, 2005] durch Quarternisierung von **57** mit Chlorameisensäureethylester bei -76°C und anschließender Spaltung der C-N-Bindung mit Natriumcyanoborhydrid zum Urethan **60** erreicht werden. Die Reduktion des Urethans erfolgte mit Lithiumaluminiumhydrid in trockenem THF und lieferte ebenfalls das Dibenz[*d,g*]azecin **61** in 55%iger Ausbeute. Auf diese Reaktion wird ebenfalls in Kapitel B.9 näher eingegangen.

Vergleicht man die $^1\text{H-NMR}$ -Spektren der beiden Verbindungen **61** und **62** fällt auf, dass die Signale der acht aliphatischen Protonen des Azecinrings bei beiden Derivaten zu einem Multiplett bei 2.6-2.9 ppm zusammenfallen. Auch das typische Singulett bei 4.19 und 4.23 ppm, welches die Methylengruppen zwischen den Aromaten anzeigt, ist bei beiden Substanzen nahezu identisch. Als neues Signal erkennt man bei **61** das Singulett der

Methoxy-Gruppe bei 3.69 ppm. Durch den Einfluss der Methoxy- bzw. Hydroxy-Gruppe kommt es zu einer Hochfeldverschiebung der beiden benachbarten Protonen H2 und H4 (s. Abb. 41), die beim unsubstituierten Dibenz[*d,g*]azecin **44** noch über 7 ppm liegen. Auch die schon in Kapitel B.2.2 beschriebene Tieffeldverschiebung der aromatischen Protonen H1 und H13 ist hier zu beobachten, wobei dieser Effekt bei H1 durch den noch vorhandenen Einfluss des Substituenten weniger stark ausgeprägt ist.

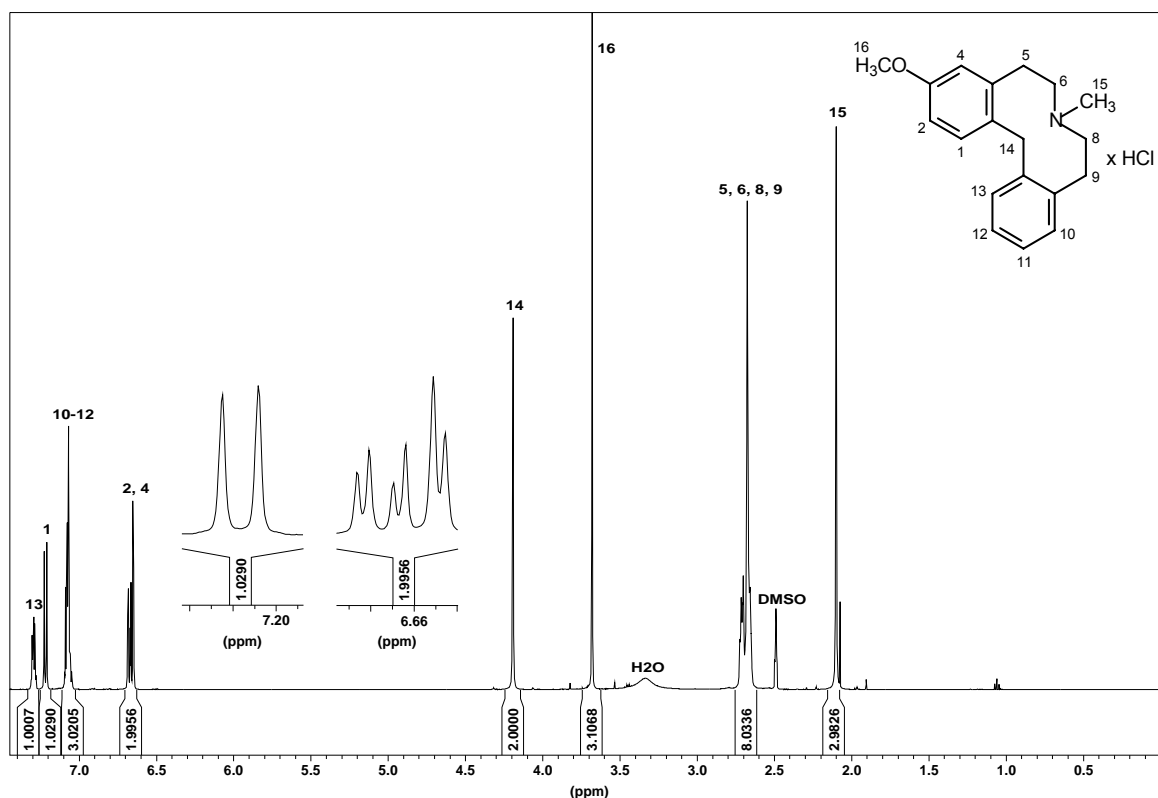


Abb. B.41: ^1H -NMR ($[\text{D}_6]$ -DMSO) von 3-Methoxy-7-methyl-5,6,7,8,9,14-hexahydrodibenz[*d,g*]azecin (**61**)

B.3.2 Synthese von 7-Ethyl-3-hydroxy- und 7-Ethyl-3-methoxy-5,6,7,8,9,14-hexahydrodibenz[*d,g*]azecin-Hydrochlorid

Decker [Decker, 2001 u. Kassack, 2002] konnte durch Radioligandbindungsstudien zeigen, dass durch Vergrößerung des Substituenten am Stickstoff von Benz[*d*]indolo[2,3-*g*]azecinen die Affinität zu den Dopaminrezeptor-Subtypen abnimmt. Ersetzt man z.B. die N-Methyl-Gruppe des **LE 300**, mit einem K_i -Wert von 1,9 nM am D_1 -Rezeptor, durch einen N-Ethyl-Substituenten, so sinkt der K_i -Wert auf 16,3 nM. Untersucht wurde nun, ob dieses Verhalten auch für die Dibenz[*d,g*]azecine gilt. Phenylethyl-Gruppen führten tatsächlich zu einem Affinitätsverlust [Schweikert, 1999].

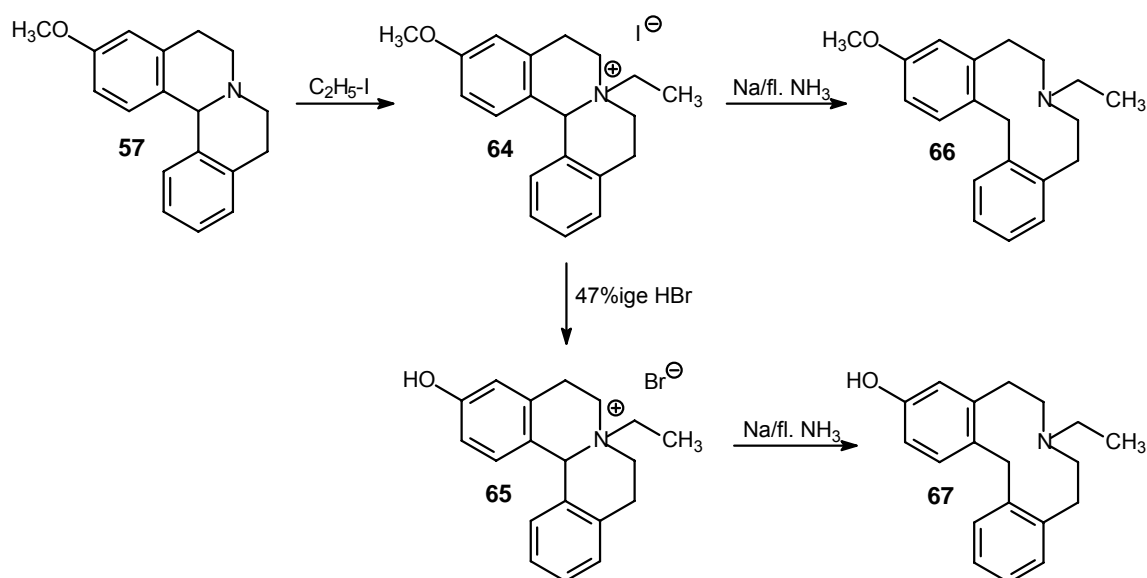


Abb. B.42: Darstellung von 7-Ethyl-3-hydroxy- und 7-Ethyl-3-methoxy-5,6,7,8,9,14-hexahydrodibenz[*d,g*]azecin (**66+67**)

Die Synthese des Benzo[*a,h*]chinolizins **57** verlief analog dem in Kapitel B.3.1 beschriebenen Weg. Die Quarternisierung von **57** mit Ethyliodid in trockenem Aceton führte in sehr guten Ausbeuten zum gewünschten Chinoliziniumsalz **64**, welches mit 47%iger HBr-Lösung zum Hydroxy-Derivat **65** gespalten werden konnte. Beide Salze wurden unter gleichen Bedingungen mit Natrium in flüssigem Ammoniak zu **66** bzw. **67** gespalten. Wie schon im vorigem Kapitel beschrieben, konnte auch hier das Methoxy-chinoliziniumsalz nur 8 min., und damit unvollständig gespalten werden, um möglichst wenig Nebenprodukte zu erhalten. Das ölige Produkt wurde mit etherischer HCl-Lösung in ein Hydrochlorid übergeführt und aus Ether/Ethanol umkristallisiert. Das analoge Hydroxy-chinoliziniumsalz **67** konnte dagegen 24 min. gespalten werden, musste aber als „inneres Salz“ bei pH 9 extrahiert werden. Auch hier konnte das ölige Produkt nur durch Hydrochloridbildung kristallin erhalten werden.

Im GC/MS konnten die erwarteten Molekülpeaks von 295 bzw. 281 m/z und das typische Fragmentierungsmuster der Dibenz[d,g]azecine (s. Kap.B.10) gefunden werden. Im ^1H -NMR-Spektrum (CDCl_3) der Base des Azecins **66** ist deutlich die Ethyl-Gruppe am Stickstoff zu erkennen, wobei das Signal der Methylgruppe als Triplett im Hochfeld bei 0.72-0.84 ppm erscheint und das Signal der benachbarten Methylengruppe ein Quadruplett bei 2.30-2.45 ppm bildet. Charakteristisch ist auch das Singulett bei 3.68 ppm, welches wie bei **61** beschrieben (3.69 ppm), die CH_3 -Gruppen der Methoxy-Substitution anzeigt. Das hydroxylierte Derivat **67** wurde als Hydrochlorid in $[\text{D}_6]$ -DMSO vermessen. Dadurch kommt es zu einer Tieffeldverschiebung des Signals der Ethyl-Gruppe, die bei Werten von 1.3 ppm für die CH_3 -Gruppe und 3.0 ppm für die Methylengruppe erscheint. Interessant ist die Aufspaltung des Signals der Methylengruppe zwischen den Aromaten zu einem Doppeldublett mit einer geminalen Kopplungskonstante von $J = 14.7$ Hz bei 3.83-4.20 ppm. Diese Aufspaltung beobachtet man bei den meisten Dibenz[d,g]azecin-Hydrochloriden, während die Methylensignale der Basen als Singulett erscheinen, für **66** bei 4.33 ppm. Bei 9.38 ppm erscheint die OH-Gruppe als scharfes Singulett, während das N-H^+ -Signal als verbreitertes Singulett bei 10.59 ppm zu sehen ist.

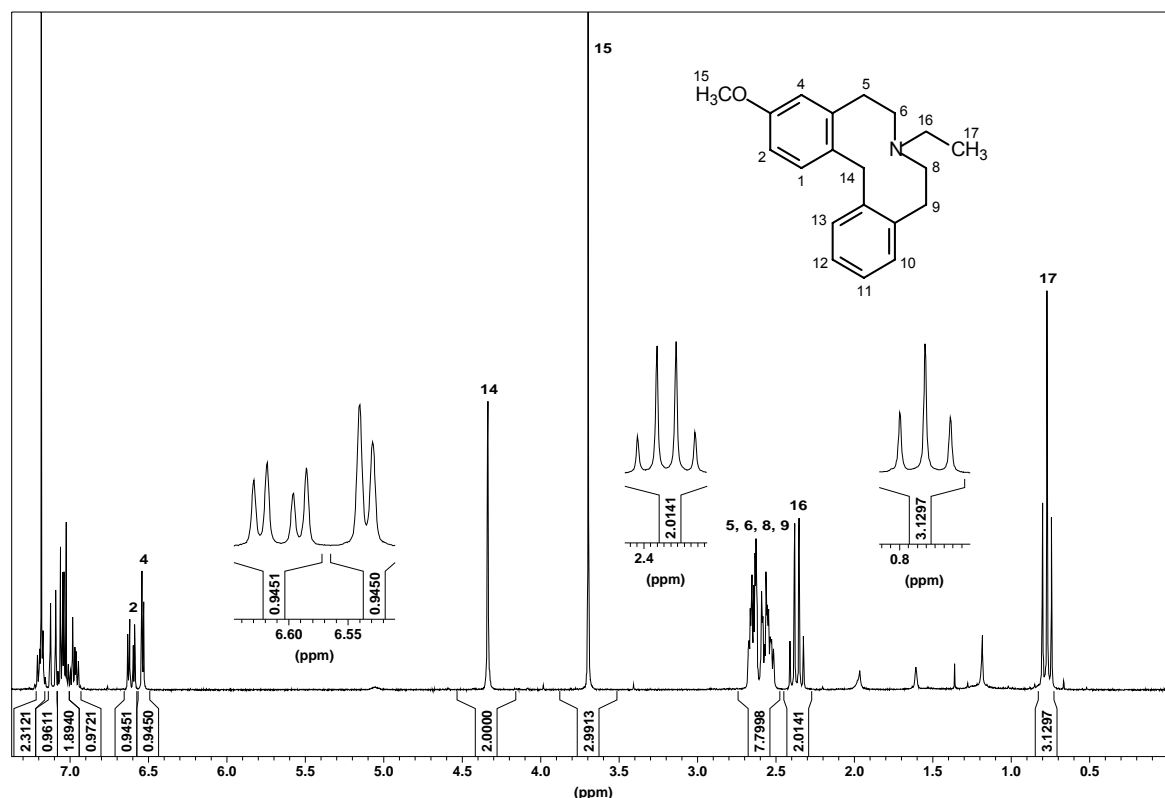


Abb. B.43: ^1H -NMR (CDCl_3) von 7-Ethyl-3-hydroxy-5,6,7,8,9,14-hexahydrodibenz[d,g]azecin (**66**)

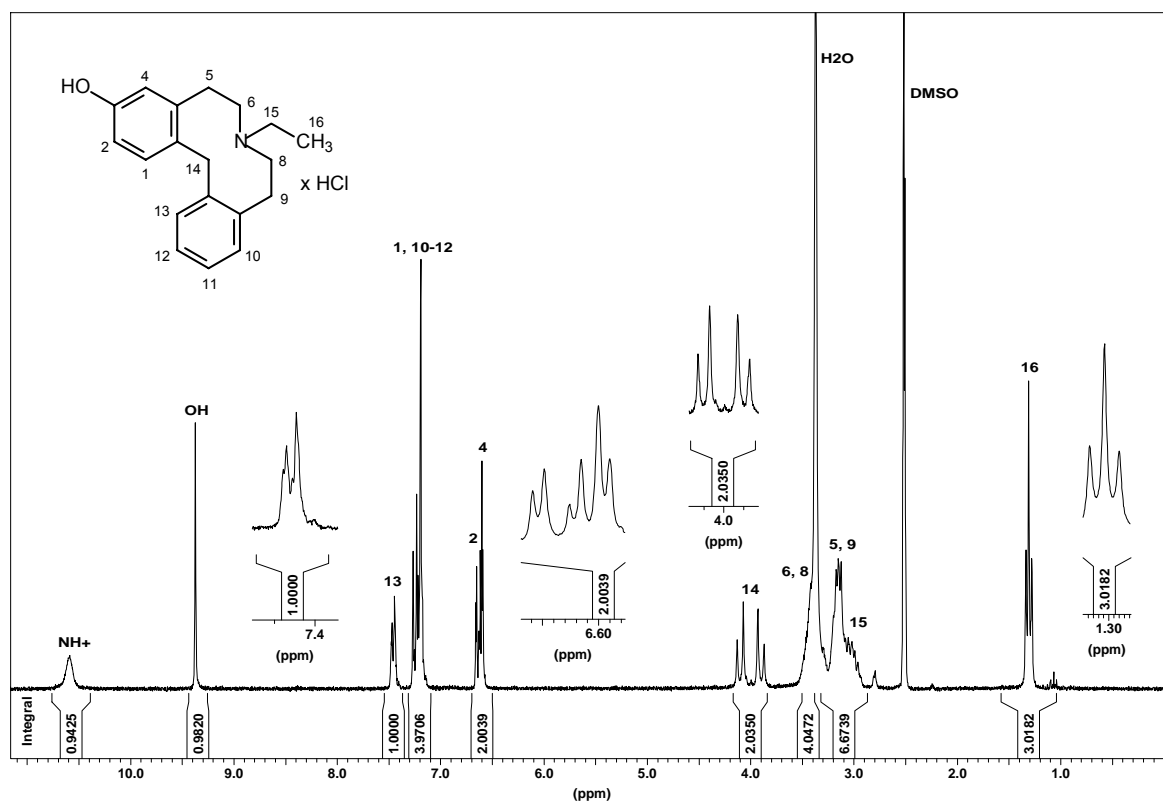
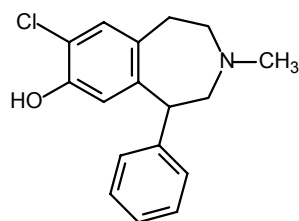


Abb. B.44: $^1\text{H-NMR}$ ($[\text{D}_6]$ -DMSO) von 7-Ethyl-3-methoxy-5,6,7,8,9,14-hexahydrodibenz[d,g]azecin (**67**)

B.3.3 Synthese von 2,4-Dichloro- und 4-Chloro-3-hydroxy-7-methyl-5,6,7,8,9,14-hexahydrodibenz[d,g]azecin-Hydrochlorid

Wie schon in der Einleitung erwähnt, handelt es sich bei dem Benzazepin SCH 23390 um einen $\text{D}_{1/5}$ -selektiven Antagonisten. Aufgrund des vorliegenden Substitutionsmusters sollte untersucht werden, ob durch Einführung eines Chlor-Atoms in **62** ebenfalls eine Selektivität bezüglich der Dopaminrezeptor-Subtypen erreicht werden könnte.



SCH 23390

Abb. B.45: $\text{D}_{1/5}$ -selektiver Antagonist **SCH 23390**

Als Ausgangsprodukt diente das schon in Kapitel B.3.1 beschriebene 3-Hydroxy-dibenz[d,g]azecin-Derivat **62**. Die Einführung eines Chlor-Atoms erfolgte durch elektrophile Substitution mit Sulfurylchlorid in Eisessig bei ca. 15°C . Nach Aufarbeitung des Ansatzes verblieb ein öliges Rückstand, der mittels GC/MS als ein Gemisch aus mono- und

dichloriertem Produkt identifiziert werden konnte. Dieses konnte durch präparative Dünnschichtchromatographie mit Ethanol als Elutionsmittel zu **68** und **69** getrennt werden. Auffällig ist, dass kein 2-chloriertes Produkt entstanden ist, obwohl es sich bei der Hydroxy-Gruppe um einen Substituenten „erster Ordnung“ handelt, der aufgrund seines +M-Effektes die Zweitsubstitution in beide Ortho-Positionen lenken sollte. Hier scheint aber die 4-Position bevorzugt zu sein, so dass erst in 2-Stellung chloriert wird, wenn die 4-Stellung substituiert ist.

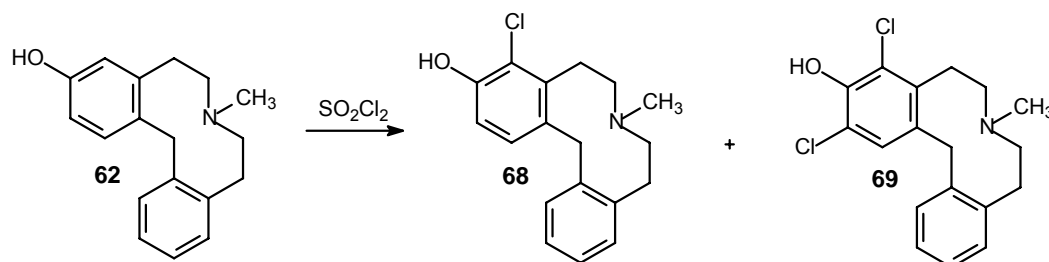


Abb. B.46: Darstellung von 2,4-Dichloro- und 4-Chloro-3-hydroxy-7-methyl-5,6,7,8,9,14-hexahydrodibenz[d,g]azecin (**68+69**)

Eine weitere Möglichkeit der Darstellung des Azecins **68** gelang durch katalytische Hydrierung des quartären, chlorierten Salzes **154** mit Wasserstoff in Gegenwart von Platindioxid. Diese Reaktion wird in Kapitel B.9 näher erläutert.

Die Charakterisierung der beiden Produkte erfolgte mittels GC/MS, wo beide Molekülpeaks von 301 bzw. 336 m/z identifiziert werden konnten. Durch das Isotopenverhältnis von 3:1 ist eine Chlorierung von **62** ebenfalls sofort erkennbar (näheres siehe Kap. B.10). Die ^1H -NMR-Spektren zeigen wieder das charakteristische Signal der Methylengruppen zwischen den Aromaten bei knapp über 4 ppm. Erscheinen die Signale der Methylengruppen des Hydroxy-Derivats **62** noch als überlagertes Multiplett zwischen 2.95 und 3.60 ppm, so kommt es durch die Elektronegativität des Chlor-Atoms zu einer Tieffeldverschiebung des Signals der Methylengruppe in Position 5, so dass es mit den Signalen der dem Stickstoff benachbarten Methylengruppen bei 3.38-3.80 ppm zu einem überlagerten breiten Multiplett zusammenfällt. Bei 3.11-3.28 ppm erscheint dann alleine das Signal der Methylengruppe in 9-Stellung. Gleiches beobachtet man bei dem dichlorierten Produkt **69**. Durch Vergleich der drei ^1H -NMR-Spektren von **62**, **68** und **69** lässt sich die Chlorierung am Aromaten verfolgen (s. Abb B.47).

Im Spektrum von **62** erscheinen noch zwei Signale durch die Nachbarschaft zur Hydroxy-Gruppe hochfeldverschoben, das Proton H2 bei 6.60-6.78 ppm als Doppeldublett und H4 bei 6.53-6.60 als Dublett. In **68** ist dagegen nur noch ein Signal unter 7 ppm zu erkennen. Da dieses Signal ein Dublett bildet und kein Singulett, muss die Chlorierung in 4-Stellung erfolgt sein. In **69** sind schließlich beide zur Hydroxy-Gruppe benachbarten Protonen durch Chlor-Atome ersetzt, somit erscheint kein Signal unter 7 ppm. Das Signal des Protons H1 liegt hier

als Singulett bei 7.30-7.35 ppm vor, während das Signal von H13 bei allen drei Substanzen im Tieffeld erscheint (s. Kap. B.2.2).

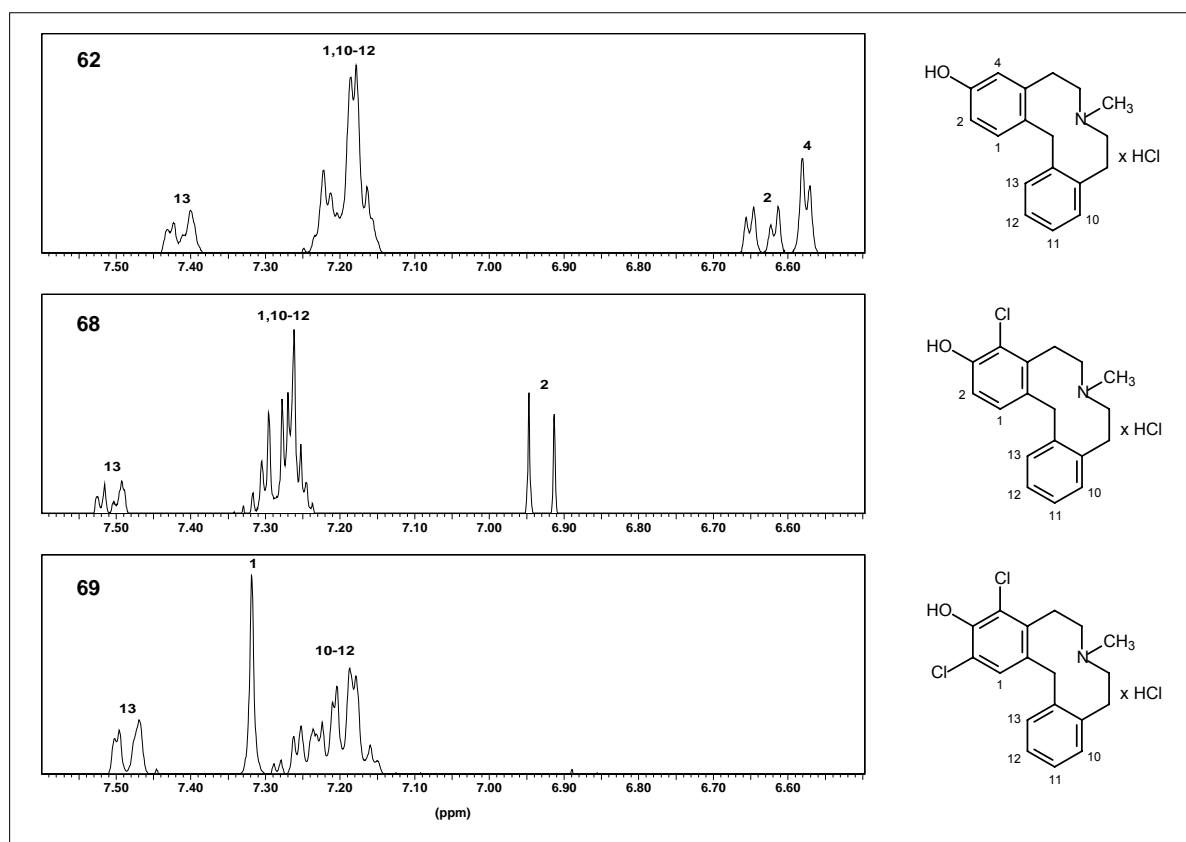


Abb. B.47: Vergleich des Aromatenbereichs von ¹H-NMR-Spektren der Substanzen **62** ([D₆]-DMSO), **68** (MeOD) und **69** (CF₃COOD)

B.3.4 Synthese von 2-Amino-3-hydroxy-7-methyl- 5,6,7,8,9,14-hexahydro-dibenz[d,g]azecin

LE 404 (62), der bisher affinste Dopaminrezeptor-Antagonist aus der Reihe der Dibenz[d,g]azecine, sollte durch weitere Substitution am Aromaten verändert werden. Hierdurch könnte ein neues Rezeptorbindungsprofil entstehen und weitere Aufschlüsse über Struktur-Wirkungsbeziehungen erhalten werden. Die Einführung einer Amino-Gruppe erschien als sinnvoll, da so nicht nur eine neue Zielverbindung zur Verfügung stehen würde, sondern sich durch Variationen der Anilin-Struktur neue Wege zu weiteren Dibenz[d,g]azecinen eröffnen liessen, was im Rahmen dieser Arbeit leider nicht mehr verwirklicht werden konnte. So wäre z.B. die Einführung einer Sulfonamid-Struktur denkbar.

Die Synthese des Methoxy-dibenzo[*a,h*]chinolizins **57** erfolgte wie in Kapitel B.3.1 beschrieben. Die Etherspaltung zu **70** gelang durch Erhitzen in 47%iger HBr-Lösung, Eindampfen der Lösung, Aufnahme des Rückstandes in Wasser und Extraktion mit einem Dichlormethan/Isopropanol-Gemisch bei pH 9. Durch anschließende Umkristallisation konnten nur 31% des Produktes isoliert werden. Auffallend ist der enorme Anstieg der Schmelztemperatur von 88°C für **57** auf 219-222°C für das Hydroxy-Derivat **70**. Dies lässt sich durch den Zwitterionencharakter der Substanz erklären, da hier die Bildung eines „inneren Salzes“ möglich ist. Die Nitrierung am Aromaten von **70** wurde nach einer Methode, die von Redon *et al.* [Redon, 2003] beschrieben wurde, unter Eiskühlung und tropfenweiser Zugabe eines Gemisches aus gleichen Teilen konzentrierter Salpetersäure und Eisessig durchgeführt. Nach Aufarbeitung des Ansatzes verblieb ein dunkler Feststoff, dessen Isolierung zu einem reinen Produkt **71** nicht gelang. Es liegt nahe, dass ein Gemisch aus mehreren unterschiedlich nitrierten Substanzen entstanden ist. Das Gemisch wurde dann zur weiteren Reinigung und Umsetzung in trockenem Aceton mit Methyljodid quarternisiert. Durch Waschen mit Aceton konnte ein grüner Feststoff in 70%iger Ausbeute, bezogen auf **70**, isoliert werden, der als das gewünschte Chinolizinium-Salz **72** identifiziert werden konnte. Anschließend Birchreduktion mit Natrium in flüssigem Ammoniak führte, wie schon in den vorangehenden Kapiteln beschrieben, zu der violetten Zielverbindung **73**. Unter diesen Bedingungen kam es neben der Spaltung der benzylichen Bindung auch zu einer Reduktion der Nitro-Gruppe zum Anilin-Analogon. Dies konnte durch GC/MS- und ¹H-NMR-Daten bestätigt werden.

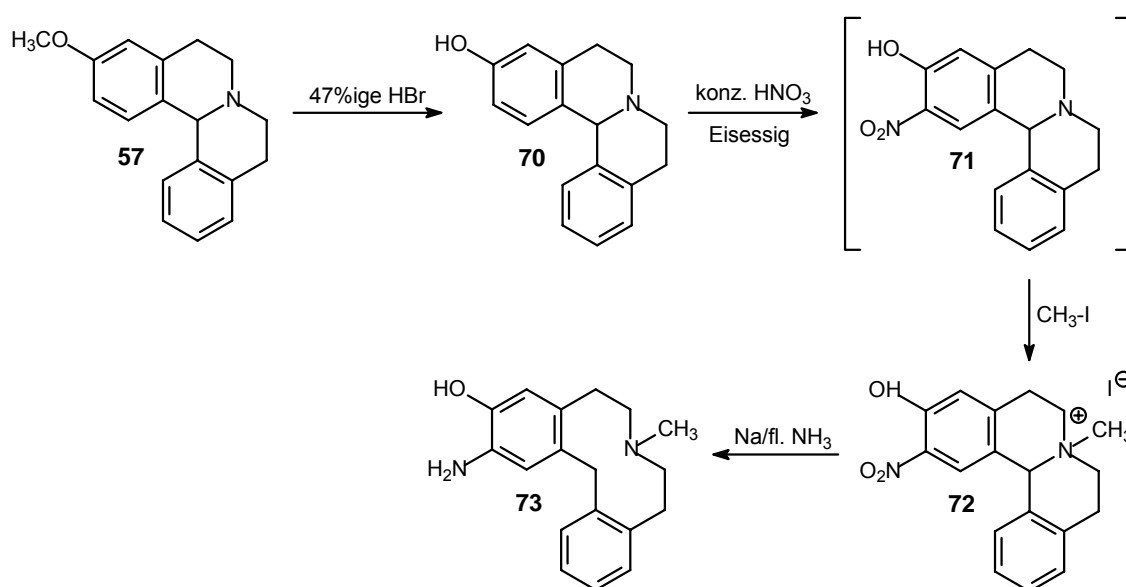


Abb. B.48: Darstellung von 2-Amino-3-hydroxy-7-methyl-5,6,7,8,9,14-hexahydrodibenz[*d,g*]azecin (**73**)

Im ^1H -NMR-Spektrum des quartären Salzes **72** erkennt man im Aromatenbereich zwei Singulett. Dies zeigt, dass die Nitrierung in 2-Stellung erfolgt sein muss, so dass das Singulett des Proton H4 durch die Nachbarschaft der Hydroxy-Gruppe hochfeldverschoben bei 7.10 ppm erscheint, während das zweite Singulett, gebildet durch das Proton H1, bei 7.66 ppm durch die Nitro-Substitution ins Tieffeld verschoben wird. Im Gegensatz zur Chlorierung (s. Kap. B.3.3) erfolgt eine Nitrierung bevorzugt in 2-Stellung. Auch im ^1H -NMR-Spektrum von **73**, aufgenommen in CDCl_3 , sind im Aromatenbereich wieder zwei Singulett zu sehen. Da jetzt das Proton H1 im Einflussbereich der zum aromatischen Amin reduzierten Nitro-Gruppe liegt, kommt es zu einem starken Rechts-Shift des Singulett auf 6.54 ppm. Ein weiterer Beweis der Reduktion findet man bei 4.10-4.60 ppm. Hier erscheint neben dem Signal der Methylen-Gruppe in Position 14 ein verbreitertes Singulett mit der Integration 3, welches nur durch die drei Protonen der NH_2 - und der OH-Gruppe gebildet werden konnte.

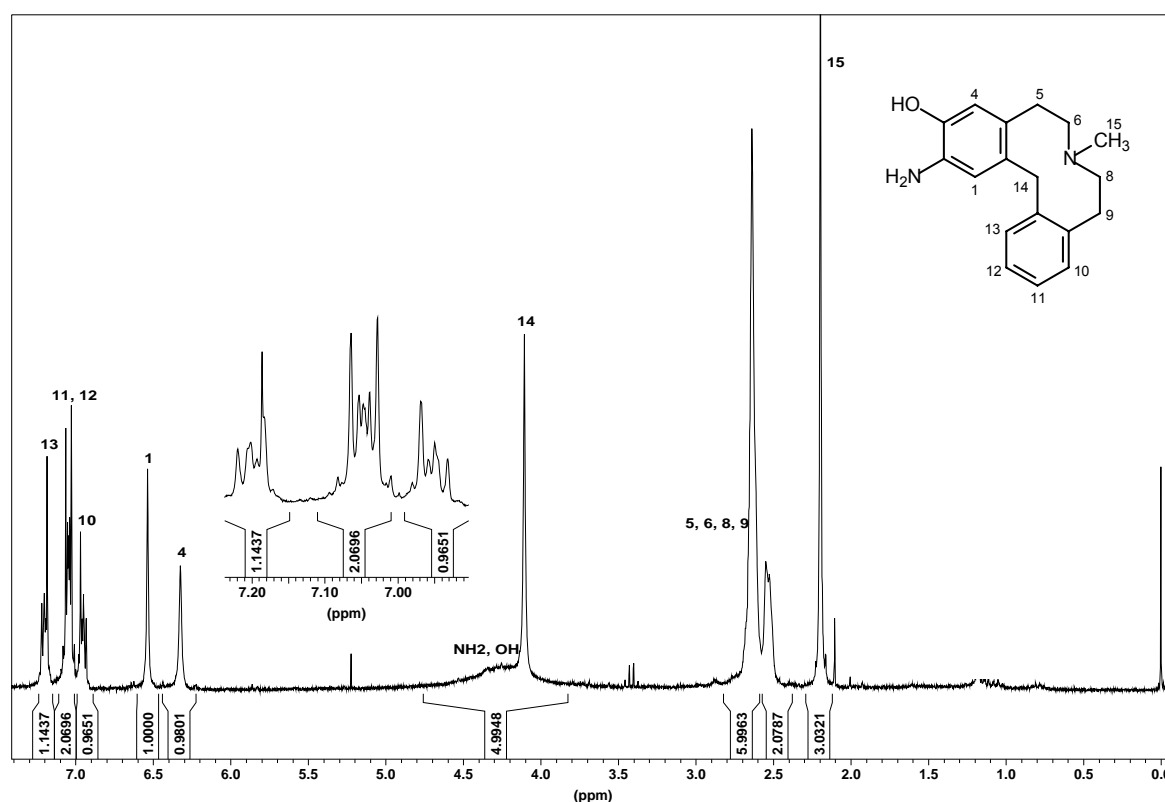


Abb. B.49: ^1H -NMR von 2-Amino-3-hydroxy-7-methyl-5,6,7,8,9,14-hexahydrodibenz[d,g]azecin (**73**)

B.3.5 Synthese von 3-Hydroxy-5,6,7,8,9,14-hexahydrodibenz[d,g]azecin

Da eine Möglichkeit zur Darstellung eines unsubstituierten „NH-Azecins“ (**34**) geschaffen war (s. Kap. B.2.2), wurde versucht, das zum **LE 404 (62)** analoge NH-Derivat **75** zu synthetisieren, um deren pharmakologische Eigenschaften an den Dopamin-Rezeptorsubtypen mit denen der Substanz **34** zu vergleichen. Ebenso bestand auch hier die Option, neue Substituenten am sekundären Amin einzuführen.

Ausgehend vom Dibenzo[*a,h*]chinolizin **70**, dessen Synthese in Kapitel B.3.1 bzw. B.3.4 beschrieben wurde, sollte die Synthese von **75** ebenfalls über die Bildung eines N-Oxids nach Craig [Craig, 1970] erfolgen. **74** wurde aus **70** mit *m*-CPBS in Chloroform unter Eiskühlung dargestellt und die Struktur mittels ^1H -NMR und hochauflösender Masse bestätigt. Die anschließende Reduktion und Spaltung der benzyllischen Bindung führte dagegen zu keinem einheitlichen Produkt. Neben geringen Mengen an **75** wurden im GC/MS-Chromatogramm eine Vielzahl anderer Produkte detektiert, aber nicht identifiziert. Eine Isolierung von **75** konnte nicht erreicht werden, so dass nach alternativen Verfahren gesucht werden musste.

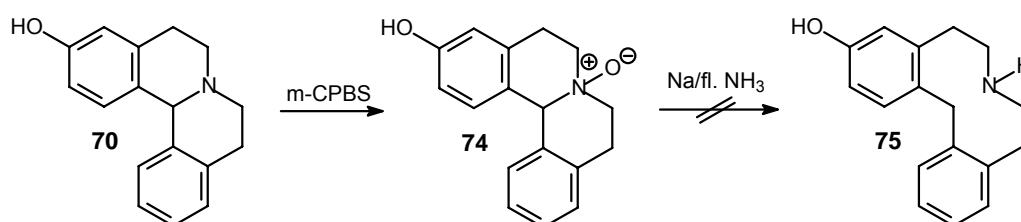


Abb. B.50: Syntheseversuch zur Herstellung von 3-Hydroxy-5,6,7,8,9,14-hexahydrodibenz[*d,g*]azecin (**75**)

Enzensperger [Enzensperger, 2005] gelang durch Modifikation einer Vorschrift nach Tanaka [Tanaka, 1978] die Darstellung eines Urethans in sehr guten Ausbeuten, sowie eine neue Reduktionsvariante mit Bortriborid. Hierdurch konnte gleichzeitig das Urethan zum Amin reduziert und eine eventuell auftretende aromatische Methoxy- oder andere Ether-Substitution zum Phenol gespalten werden. Die Reaktion gelang an homologen Dibenzo[*a,h*]chinolizinen, bei denen der nicht aromatische Ring B um ein C-Atom erweitert war [Enzensperger, 2005].

Aufgrund dieser Arbeit wurde versucht, die Herstellung von **75** ebenfalls über ein Urethan zu realisieren.

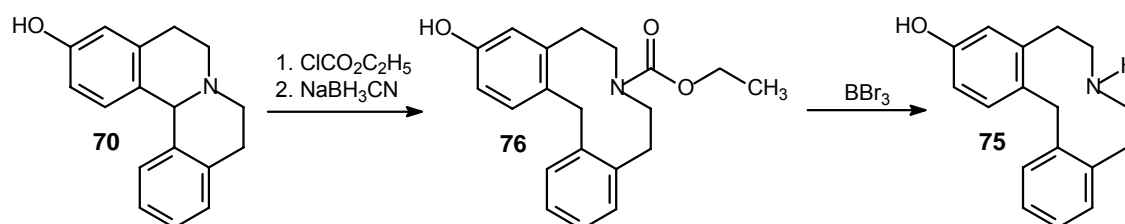


Abb. B.51: Darstellung von 3-Hydroxy-5,6,7,8,9,14-hexahydrodibenz[*d,g*]azecin (**75**)

Die Darstellung von **76** gelang, wie auch in Kap. B.3.1 beschrieben, mit Chlorameisensäureethylester in trockenem THF bei -76°C zu einem quartären Zwischenprodukt, welches mit Natriumcyanoborhydrid *in situ* zum gewünschten Produkt **76** gespalten wurde. Nach Aufarbeitung konnte der ölige Rückstand aus Toluol in 90%iger

Ausbeute umkristallisiert werden. Der getrocknete, weiße Feststoff erwies sich in nahezu jedem Lösungsmittel als unlöslich.

Die weitere Umsetzung zu **75** erfolgte als Suspension in Toluol unter Zusatz weniger Tropfen Bortribromid bei 120°C. Anschließende Extraktion im schwach Alkalischen und Abdampfen der organischen Phase lieferte einen gelben, sehr leichten Feststoff, der als das NH-Azecin **75** identifiziert werden konnte.

Die Urethanstruktur von **76** konnte durch ^1H -NMR-Daten und GC/MS-Analytik geklärt werden. In Abb. B.52 sieht man deutlich die Hochfeldverschiebung des Signals der CH_3 -Gruppe der Urethanseitenkette in Position 18, die als doppeltes Triplet erscheint. Durch den Einfluss des Sauerstoffs kommt es zu einer Tieffeldverschiebung des Signals der Methylen-Gruppe in Position 17, die hier ein ddd-Signal bildet und mit einer Konstanten von $J = 7.1$ Hz mit der Methyl-Gruppe (18) koppelt. Vergleicht man **76** mit dem Methoxy-Analogon **60** (s. Kap. B.3.1), erscheinen fast keine Unterschiede in den Verschiebungen der einzelnen Protonensignale. Sie zeigen beide die typischen Signale von Dibenz[*d,g*]azecinen. Das Signal der Methyl-Gruppe in Position 19 der Verbindung **60** fällt hier mit dem Signal der Methylengruppe 17 zusammen.

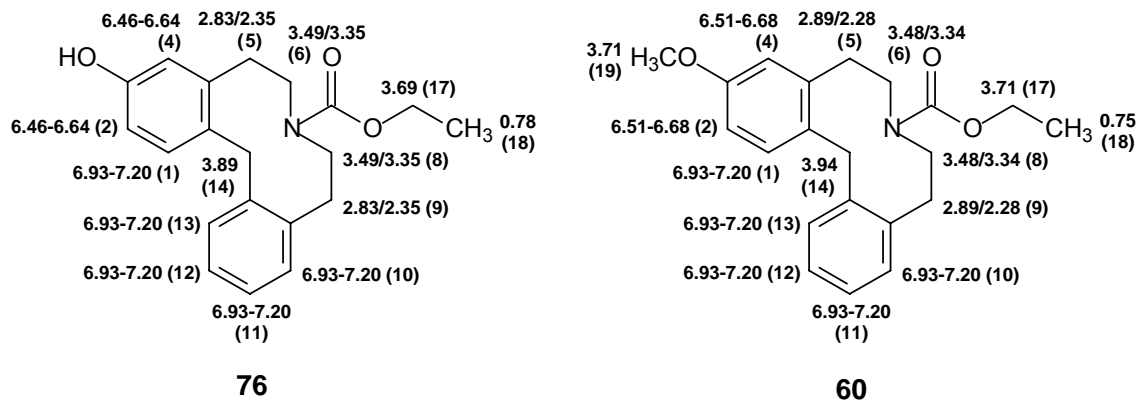


Abb. B.52: Vergleich der ^1H -NMR-Daten (CDCl_3) der Urethane **76** und **60**

Ein weiteres charakteristisches Merkmal der Urethanstruktur lässt sich im ^{13}C -Spektrum der Verbindung **76** erkennen. Hier erscheint neben dem Signal am C3-Atom bei 155.34 ppm ein zweites Signal bei 155.51 ppm, welches nur durch die Carbonylstruktur am C15 zu erklären ist.

Die Struktursicherung der Zielverbindung **75** gelang ebenfalls durch GC/MS-Analytik, die den gewünschten Molekülpeak von 253 m/z und das typische Fragmentierungsmuster dieser Azecine anzeigte (s. Kap. B.10). Im ^1H -NMR sieht man bei 8.80-9.00 ppm das Signal der NH_2^+ -Gruppe (vermessen wurde das Hydrochlorid in $[\text{D}_6]$ -DMSO) und bei 9.30-9.50 ppm das

Singulett der OH-Substitution. Beide Signale konnten durch D₂O-Austausch eindeutig nachgewiesen werden. Die Signale der Methylengruppen des Azecinringsystems fallen zu einem Multiplett bei 3.00-3.30 ppm zusammen. Durch die phenolische Struktur werden die Signale der benachbarten Protonen H2 und H4 hochfeldverschoben, wie bei anderen phenolischen Azecinen schon beobachtet werden konnte (s. Kap. B.3.1). Auch die Methylengruppe zwischen den Aromaten erscheint als Singulett bei 3.99 ppm und liegt damit im für Dibenz[d,g]azecine typischen Bereich.

Im ¹³C-Spektrum erkennt man die fünf Peaks der aliphatischen Methylengruppen bei kleinen ppm-Werten, während die zwölf Signale der Aromaten bei Werten zwischen 110 und 160 ppm erscheinen. Bei 155.99 ppm ist das durch die Hydroxy-Gruppe tieffeldverschobene Signal des Kohlenstoffs C3 zu erkennen.

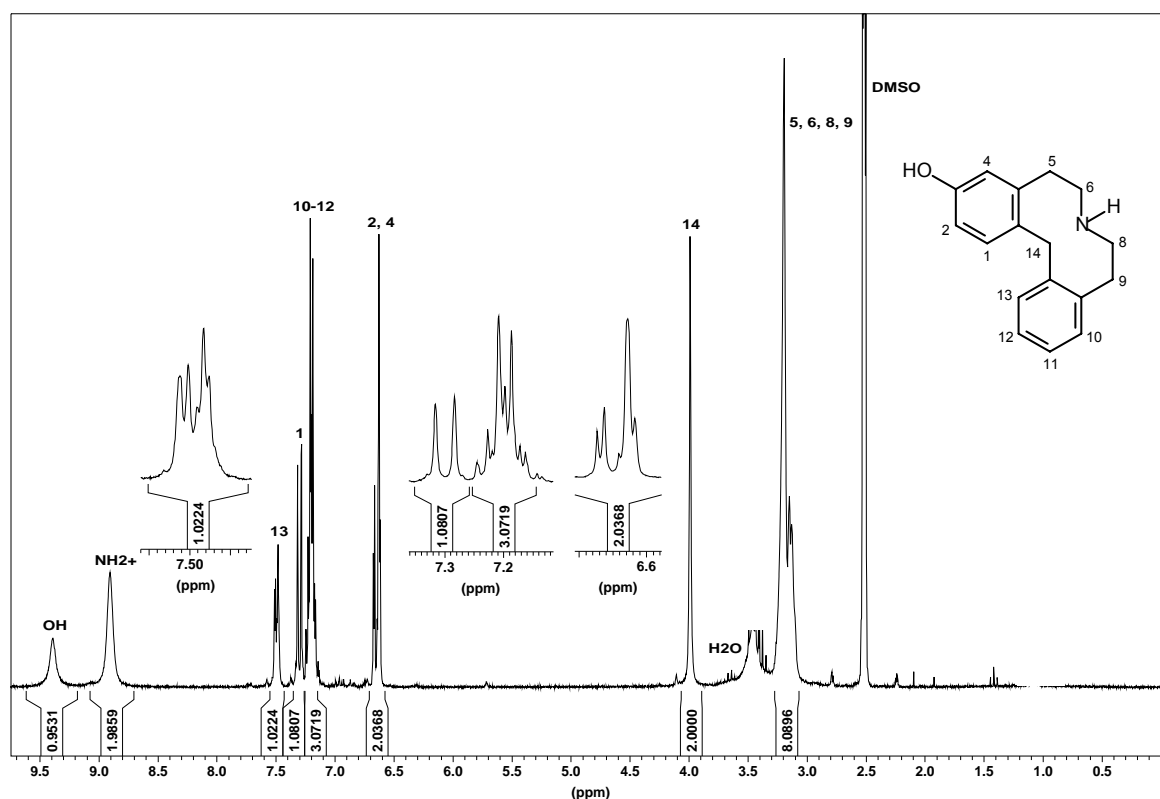


Abb. B.53: ¹H-NMR ([D₆]-DMSO) von 3-Hydroxy-5,6,7,8,9,14-hexahydrodibenz[d,g]azecin (75)

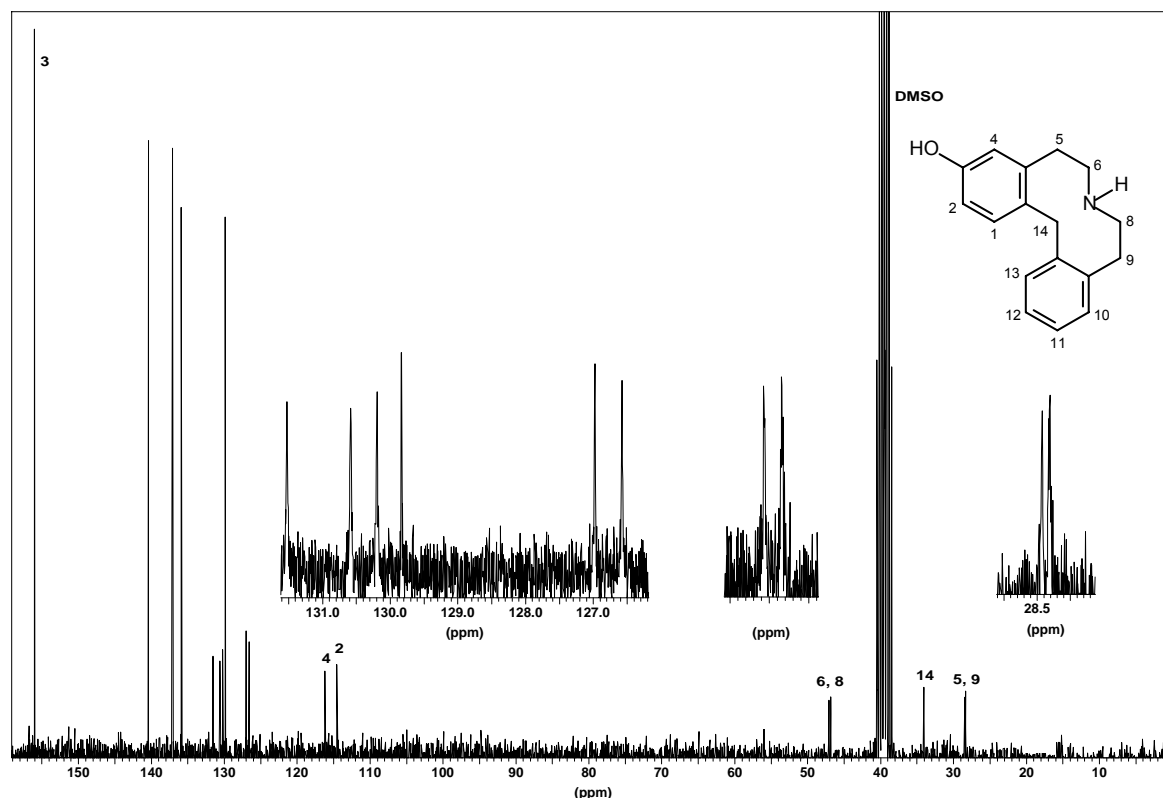


Abb. B.54: ^{13}C -NMR ($[\text{D}_6]$ -DMSO) von 3-Hydroxy-5,6,7,8,9,14-hexahydrodibenz[d,g]azecin (**75**)

B.3.6 Synthese von 3-Hydroxy-7-(2-hydroxyethyl)- 5,6,7,8,9,14-hexahydrodibenz[d,g]azecin-Hydrochlorid

Wie schon in Radioligandbindungsstudien von Decker [Decker, 2001] und Wittig [Wittig, 2004] gezeigt werden konnte, scheint mit zunehmender Substituentengröße am Stickstoff der Azecine die Affinität zu den Dopaminrezeptor-Sybtypen geringer zu werden. Bislang wurden aber nur Substanzen getestet, die am basischen Stickstoff mit Alkylketten unterschiedlicher Länge substituiert waren. Es erschien interessant, ob durch Einführung einer Hydroxyethyl-Seitenkette über z.B. Wasserstoffbrückenbindungen eine neue Bindungsmöglichkeit am Dopamin-Rezeptor geschaffen werden könnte. Hydroxyethyl-Seitenketten findet man auch bei den Neuroleptika Fluphenazin oder Flupentixol.

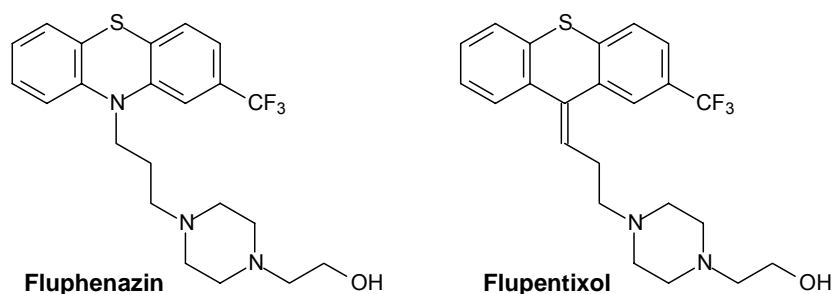


Abb. B.55: Neuroleptika mit Hydroxyethyl-Substitution: Fluphenazin und Flupentixol

Ausgehend von **70** (s. Kap. B.3.1 und B.3.4) gelang die Quarternisierung mit 2-Bromethanol in siedendem Toluol quantitativ. Die anschließende Spaltung der benzylichen C-N-Bindung in **77** erfolgte mit Natrium in flüssigem Ammoniak. Die Reaktion wurde nach 8 min. abgebrochen, um möglichst wenig Nebenprodukte zu erhalten. Nach säulenchromatographischer Reinigung und Umkristallisation des Hydrochlorids konnte in geringen Ausbeuten das Dibenz[*d,g*]azecin **78** erhalten werden.

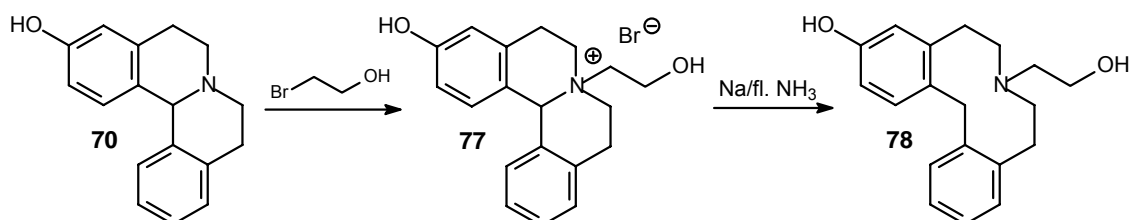


Abb. B.56: Darstellung von 3-Hydroxy-7-(2-hydroxyethyl)-5,6,7,8,9,14-hexahydrodibenz[*d,g*]azecin (**78**)

Im ^1H -NMR des Azecins **78** erkennt man wieder die Signale der Methylengruppe zwischen den Aromaten bei 4.01–4.14 ppm. Die Signale der beiden Methylene-Gruppen der Hydroxyethyl-Seitenkette erscheinen bei 3.10–3.30 ppm und, durch die Nachbarschaft zum Alkohol, tieffeldverschoben bei 3.75–3.88 ppm. Der Aromatenbereich zeigt im Wesentlichen das gleiche Aufspaltungsmuster wie **LE 404 (62)** (s. Kap. B.3.1).

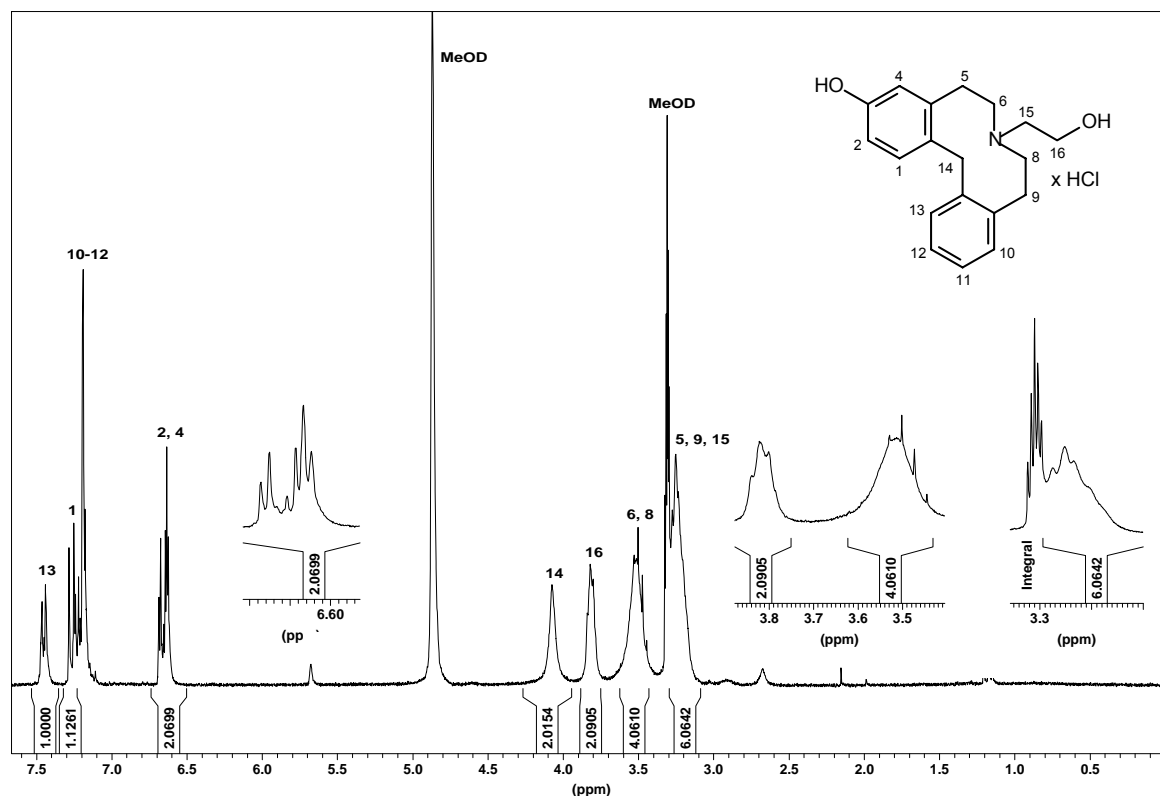


Abb. B.57: ^1H -NMR (MeOD) von 3-Hydroxy-7-(2-hydroxyethyl)-5,6,7,8,9,14-hexahydrodibenz[*d,g*]azecin (**78**)

B.3.7 Synthese von 7-Methyl-5,6,7,8,9,14-hexahydrodibenz[*d,g*]azecin-3-yl-acetat-Hydrochlorid

Ein weiterer Aspekt dieser Arbeit war es, eine ZNS-gängige Prodrug-Variante des **LE 404** (**62**) zu entwickeln.

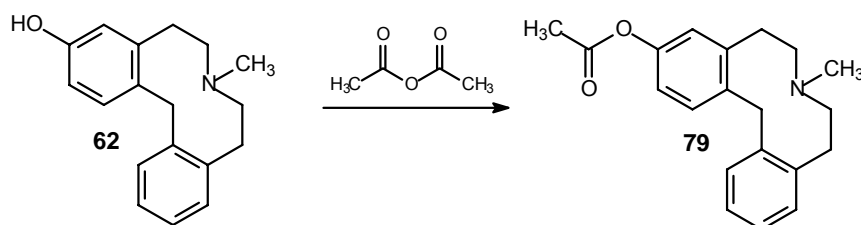


Abb. B.58: Darstellung von 7-Methyl-5,6,7,8,9,14-hexahydrodibenz[*d,g*]azecin-3-yl-acetat (**79**)

Die Synthese von **62** erfolgte wie in Kapitel B.3.1 beschrieben. Die anschließende Acetylierung der phenolischen OH-Gruppe erfolgte nach einer Vorschrift von Hanessian *et al.* [Hanessian, 2003] mit Acetanhydrid in Chloroform unter Zusatz von DMAP, Triethylamin und Pyridin. DMAP wurde als sogenannter Steglich-Katalysator zur Aktivierung des Acetanhydrids eingesetzt [Brückner, 1996], während man die beiden andere Basen zum „Abfangen“ der freiwerdenden Protonen des Phenols und der gebildeten Acetat-Ionen benötigte. Nach 16stündiger Reaktion bei Raumtemperatur und anschließender Aufarbeitung konnte ein Öl isoliert werden, welches zur besseren Reinigung als Hydrochlorid gefällt wurde. Nach Umkristallisation konnten nur 18% des Azeciny-Acetats **79** rein isoliert werden.

Sowohl über den Molekülpeak von 309 *m/z*, als auch durch das typische Fragmentierungsmuster der Dibenz[*d,g*]azecine, auf welches in Kapitel B.10 näher eingegangen wird, konnte **79** durch GC/MS-Chromatographie einwandfrei identifiziert werden. Im ¹H-NMR wurde dagegen eine Verunreinigung von ca. 20% durch das Edukt **62** festgestellt. Dies führte zu der Annahme, dass die Esterbindung relativ instabil sein musste und damit zu **62** hydrolysierte. Abdampfen des deuterierten Lösungsmittels und nochmaliges vermessen im GC/MS zeigten ebenfalls die 20%ige Verunreinigung durch **62**.

Durch Subtraktion des ¹H-NMR-Spektrums von **62** gelang es die Signale des Produktes **79** eindeutig zuzuordnen. Charakteristisch für die Substanz **79** ist das Singulett bei 2.21 ppm, welches die Methyl-Gruppe (18) des Acetat-Restes anzeigt. Die Signale der Protonen H2 und H4 werden durch die Nachbarschaft zur Acetyl-Gruppe weniger stark ins Hochfeld verschoben, als dies durch den Hydroxyl-Substituenten in **62** der Fall ist. Dadurch wirkt sich dieser Effekt in **79** auch weniger auf das Proton H1 aus, so dass dieses Signal mit dem Signal von H13 zusammen in Tieffeld bei 7.34 ppm erscheint (s. Kap. B.2.1).

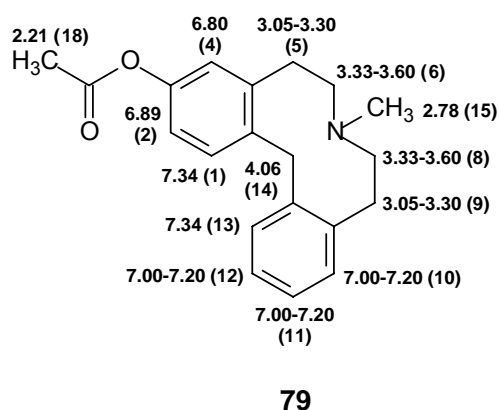
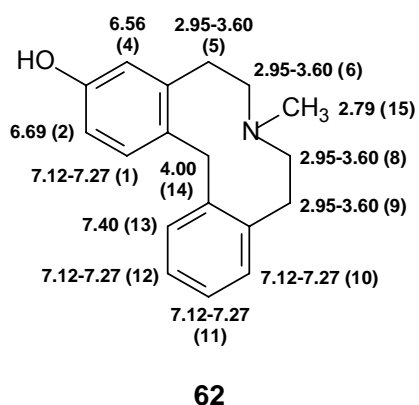
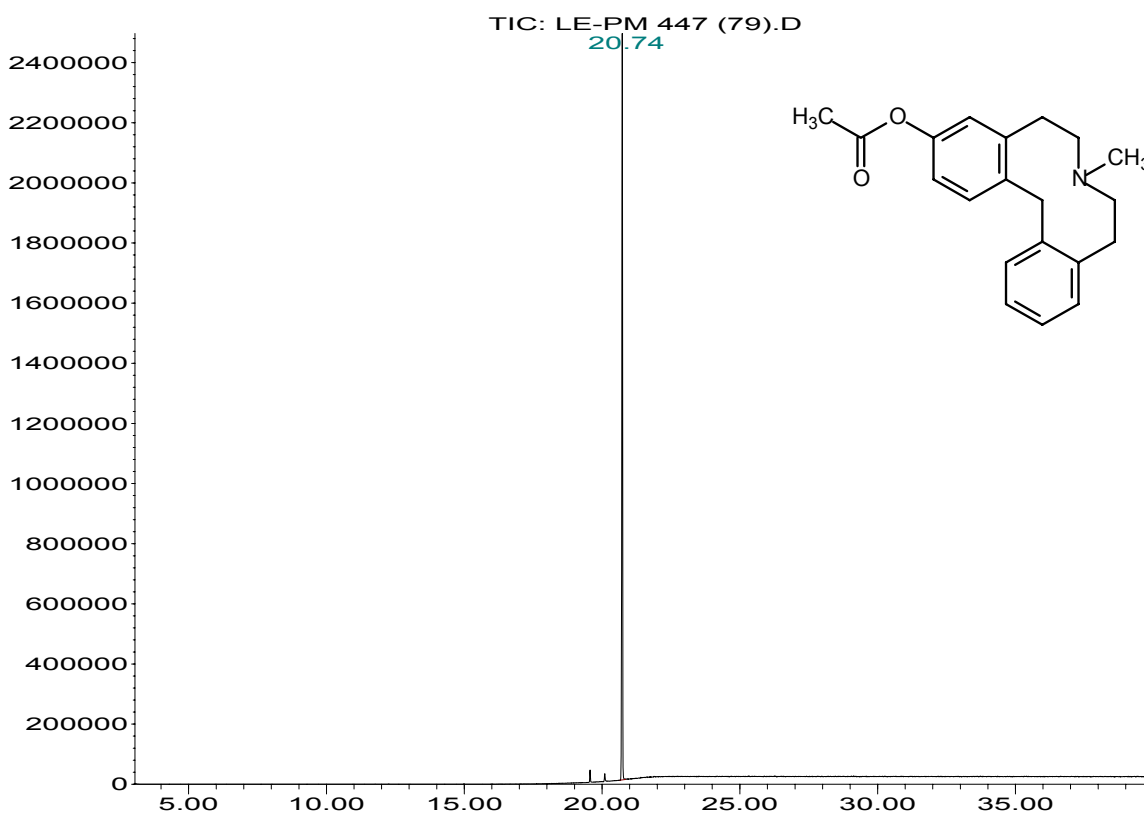


Abb. B.59: Vergleich der ^1H -NMR-Daten (CDCl_3) von **62** und **79**

Abundance



Time-->

Abb. B.60: GC/MS von 7-Methyl-5,6,7,8,9,14-hexahydrodibenz[d,g]azecin-3-yl-acetat (**79**)

Abundance

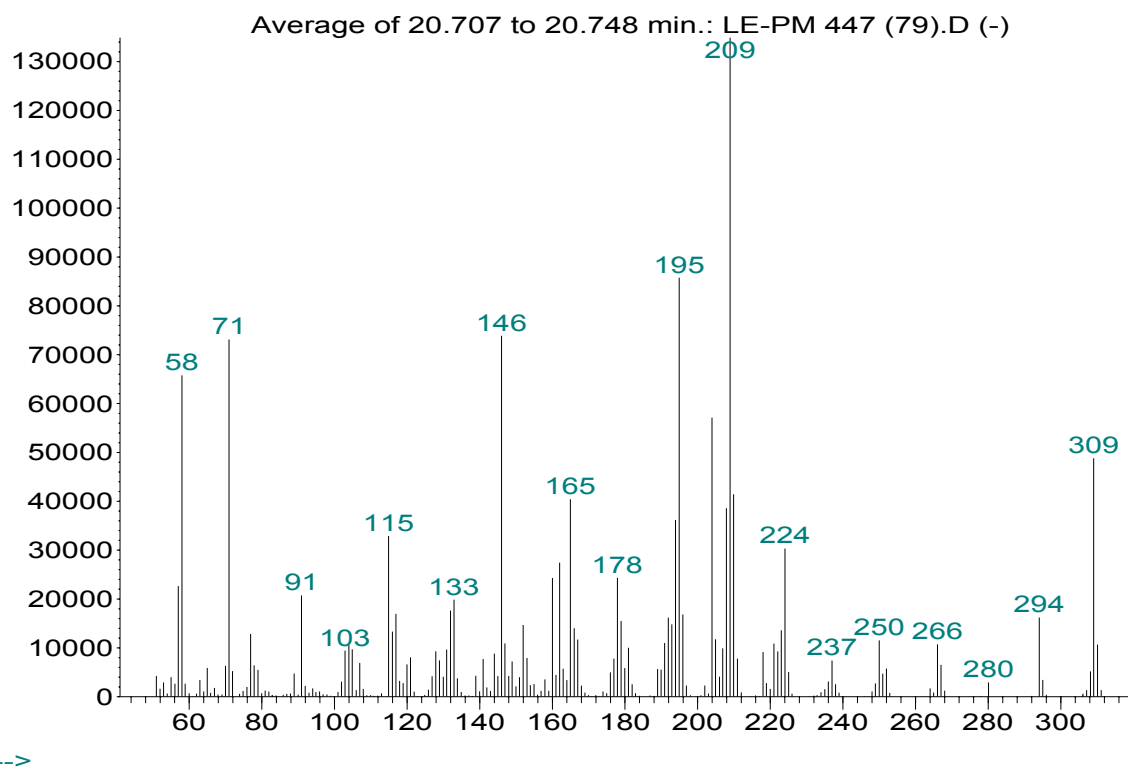


Abb. B.60 (Fortsetzung): GC/MS von 7-Methyl-5,6,7,8,9,14-hexahydrodibenz[d,g]azecin-3-yl-acetat (**79**)

B.4 Synthese von 2-hydroxylierten und 2-methoxylierten Dibenz[d,g]azecinen

B.4.1 Synthese von 2-Hydroxy- und 2-Methoxy-7-methyl-5,6,7,8,9,14-hexahydro-dibenz[d,g]azecin-Hydrochlorid

Wie Schweikert [Schweikert, 1999] bereits zeigen konnte, führte die Einführung einer OH-Gruppe in 3-Stellung des Aromaten der Dibenz[d,g]azecine zu einer hohen Affinitätssteigerung am Dopamin-Rezeptor. Um die Bindung des Moleküls am Rezeptor besser beurteilen zu können, erschien es daher interessant, durch Verschiebung der OH-Gruppe in 2-Stellung eine neue Reihe von Dibenz[d,g]azecinen zu synthetisieren und deren Rezeptorbindungsprofil zu überprüfen. Die Synthese erfolgte entsprechend Abb. B.61.

Die Darstellung von 2-(3-Chloro-4-methoxyphenyl)ethylamin (**84**) gelang auf zwei unterschiedlichen Wegen. p-Anisaldehyd (**80**) wurde nach Iida *et al.* [Iida, 1975] mit Sulfurylchlorid zu **81** halogeniert und dann mit Nitromethan in Eisessig bei 100°C zum Nitrostyren **82** umgesetzt. Die Reduktion des Nitrostyrens **82** zum primären Amin **84** konnte durch Lithiumaluminiumhydrid in trockenem THF unter Kühlung erreicht werden. Es entstand ein gelbes Öl, welches durch Destillation gereinigt wurde. Da dieser von Iida beschriebene

Weg recht aufwendig über drei Stufen zum Amin führte, wurde nach alternativen Methoden gesucht, die in einer Vorschrift von Yu *et al.* [Yu, 2001] gefunden werden konnten. Yu setzte p-Methoxy-phenylethylamin (**83**) in Eisessig mit Sulfurylchlorid um und fällte aus der Lösung durch Zugabe von Ether das Hydrochlorid des Amins **84** aus.

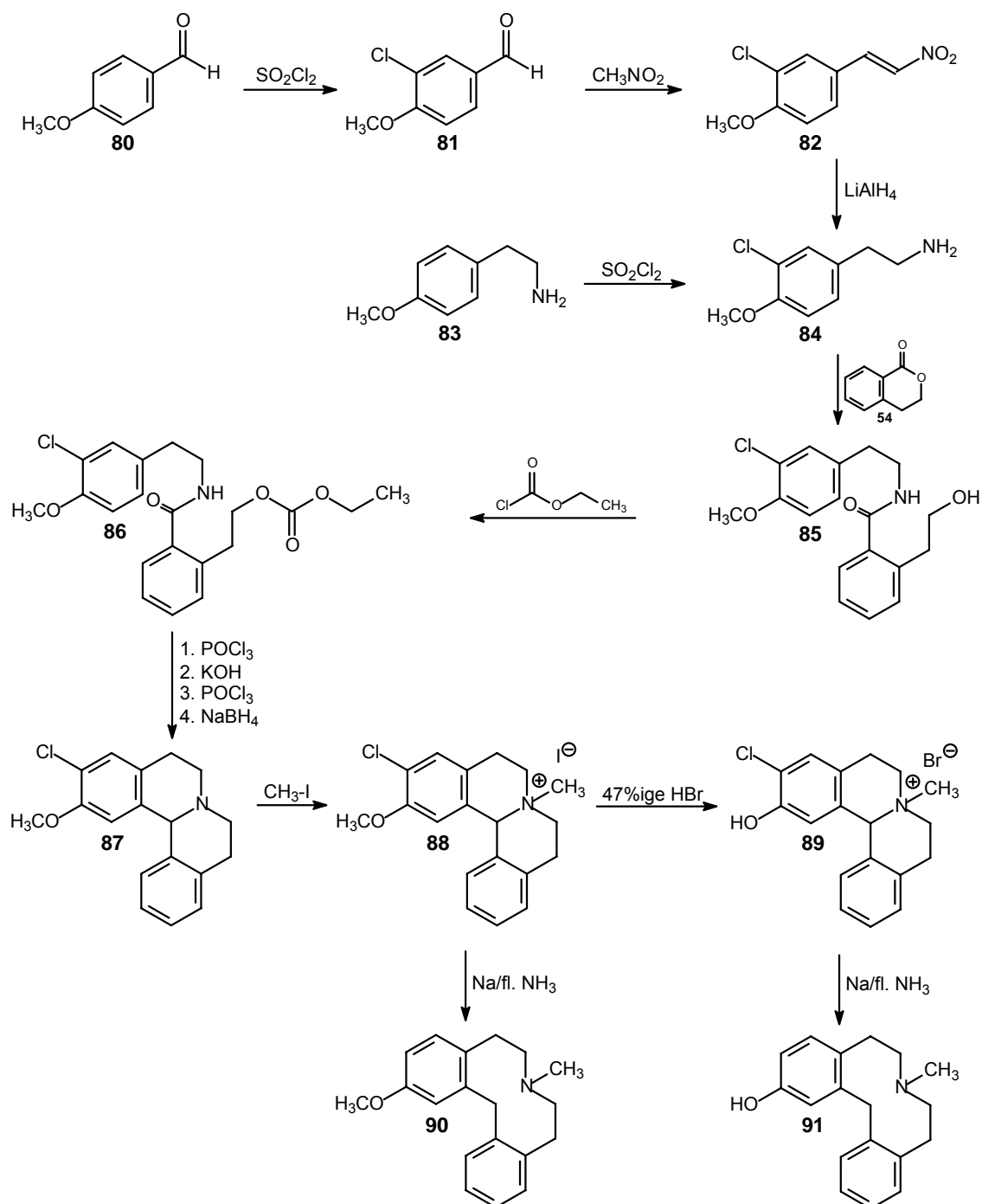


Abb. B.61: Darstellung von 2-Hydroxy- und 2-Methoxy-7-methyl-5,6,7,8,9,14-hexahydrodibenz[d,g]azecin (**90+91**)

Die darauffolgende Aminolyse des Amins mit Isochromanon (**54**), dessen genaue Synthese in Kapitel B.3.1 erläutert wurde, erfolgte nach einer bereits bei Meise [Meise, 1976] beschriebenen Methode durch 5stündiges Erhitzen bei 120°C ohne Lösungsmittel. Die Abtrennung der Edukte vom Hydroxyethylbenzamid **85** konnte durch säulenchromatographische Reinigung erreicht werden. Die Integration des ¹H-NMR von **85** lässt erkennen, dass eine Bindung zwischen Amin und Lacton erfolgt sein muss. Auch stimmen die Verschiebungen der einzelnen Signale der Protonen im Wesentlichen mit den ähnlichen, von Meise synthetisierten Benzamiden, überein.

Die Zyklisierung zum Dibenzo[*a,h*]chinolizin **87** konnte nicht auf direktem Weg erfolgen, wie in Kapitel B.3.1 für das in 3-Stellung methoxylierte Hydroxyethylbenzamid **56** beschrieben wird, da eine sofortige Umsetzung mit Phosphorylchlorid über Imidlactone zu Lactamen führt. Dieser Mechanismus konnte von Mika [Mika, 1989] aufgeklärt werden. Ebenso beobachtete Schlüter [Schlüter, 1987] bei seinen um eine CH₂-Gruppe erweiterten, homologen Benzamiden diese Reaktion. Begründet werden konnte dies durch die vorzeitige Chlorierung der Hydroxy-Gruppe an der Ethylseitenkette und anschließender Alkylierung des Stickstoffs, so dass ein Bischler-Napieralski-Ringschluss nicht mehr möglich war. Im vorliegenden Fall kommt es durch meta-Stellung der Methoxy-Gruppe zur Ringschlussstelle zu einem erschwerten elektrophilen Angriff, wodurch die oben beschriebene frühzeitige Alkylierung des Stickstoffs bevorzugt wurde. Diese nach weiterer Aufarbeitung gebildeten Lactame werden in Kapitel B.8 näher erläutert. Um diese Reaktion zu verhindern, wurde die Hydroxy-Gruppe nach Schlüter mit Chlorameisensäureethylester blockiert. Durch tropfenweise Zugabe dieser Schutzgruppe in eine Pyridin/Chloroform-Lösung von **85** konnte **86** in sehr guten Ausbeuten erzielt werden. Das ¹H-NMR zeigt hier das charakteristische Signal der Methyl-Gruppe des Kohlensäureesters bei 1.20-1.34 ppm als Triplett. Ebenso erscheinen die Signale der Methylen-Gruppen in Nachbarschaft zur Säurefunktion tieffeldverschoben bei 4.15 und 4.37 ppm als Quartett bzw. Triplett.

Das geschützte Benzamid **86** wurde dann in einer „Eintopf“-Reaktion analog dem von Schlüter für homologe Benzamide beschriebenen Weg zyklisiert. Schlüter und Wittig [Wittig, 2004] gelang darüber hinaus die Isolierung der Zwischenstufen ihrer homologen Verbindungen, welches für die unter Abb. B.62 gezeigten Stufen leider misslang. Da aber das gleiche Prinzip zu Grunde lag, konnte von einem analogen Reaktionsmechanismus ausgegangen werden.

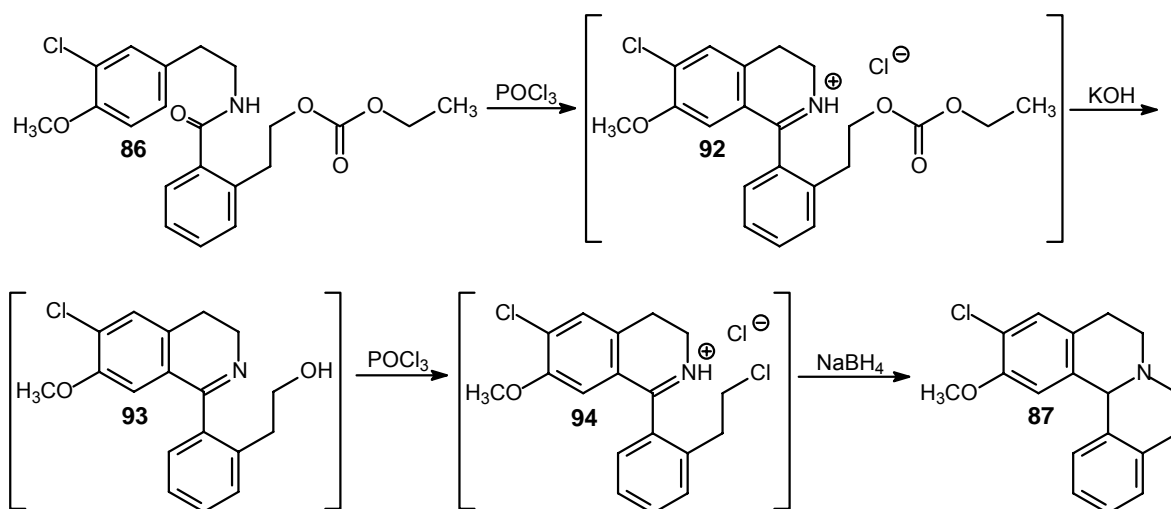


Abb. B.62: Darstellung der Zwischenstufen bei der Synthese des Dibenzo[a,h]chinolizins **87**

86 konnte durch 15stündiges Erhitzen bei 95°C durch Phosphorylchlorid in Acetonitril zu **92** zyklisiert werden, welches durch anschließende Verseifung in ethanolischer KOH-Lösung in das Dihydroisochinolin **93** mit freier Alkoholfunktion überführt wurde. Durch Chlorierung der Hydroxy-Gruppe mit Phosphorylchlorid (**94**) und Reduktion mit Natriumborhydrid in Methanol gelang man schließlich zu der gewünschten Verbindung **87**. Die Bildung dieses Tetrazyklus konnte GC/MS-analytisch bewiesen werden. Im Chromatogramm ist der gewünschte Molekülpeak als $[\text{M}-\text{H}]^+$ -Signal von 298 m/z und das für Dibenzo[a,h]chinolizine typische Fragmentierungsmuster zu sehen (s. Kap. B.10). Im ^1H -NMR konnte die Struktur von **87** durch das Signal des Methin-Protons zwischen den Aromaten bei 5.04 ppm und die Integration der aromatischen Signale auf sechs Protonen bestätigt werden. Die geringen Ausbeuten von 13% sind durch das ungünstige Substitutionsmuster des Aromaten zu erklären (s. o.).

Quarternisierung von **87** mit Methyljodid in trockenem Aceton führte in 91%iger Ausbeute zum N-methylierten Salz **88**, welches durch vierstündiges Erhitzen unter Rückfluss in 47%iger HBr-Lösung in das quartäre Salz **89** umgesetzt werden konnte. Beide Produkte **88** und **89** konnten durch die in Kapitel B.2.2 ausführlich beschriebene Birchreduktion mit Natrium in flüssigem Ammoniak in die jeweiligen Dibenz[d,g]azecine **90** bzw. **91** gespalten werden. Unter diesen Bedingungen kam es neben der Spaltung der benzylichen Bindung auch zu einer Abspaltung des Chlor-Substituenten am Aromaten. Wie in Kapitel B.4.4 beschrieben, gelang es bei den 2-methoxylierten Azecinen nicht, eine Methode zu entwickeln, bei der unter Erhalt des Chlor-Substituenten die benzyliche Bindung gespalten werden konnte. Erst durch nachträgliche Chlorierung auf der Azecin-Stufe konnten solche Produkte erzielt werden. Aufgrund dieser Ergebnisse und den Arbeiten von Mika [Schlüter, 1987], dem durch die Einführung einer Schutzgruppe in die Hydroxyethylseitenkette eines am Aromat völlig unsubstituierten Benzamids ein Bischler-Napieralski-Ringschluss mit

12%iger Ausbeute gelang, erscheint in diesem Fall eine Chlorierung auf der Stufe des Phenylethylamins **83** nicht unbedingt notwendig.

Um dies beweisen zu können, wurde das Amin **83** direkt mit Isochromanon (**54**) 6 h bei 120°C zum Benzamid **95** umgesetzt. Der Schmelzpunkt von 91-94°C stimmte mit den von Meise *et al.* [Meise, 1976] veröffentlichen überein. Die Einführung einer Schutzgruppe gelang dann analog **86** mit Chlorameisensäureethylester durch 1stündiges Rühren in Pyridin/Chloroform in 75%iger Ausbeute.

Das ^1H -NMR des geschützten Benzamids **96** zeigt das gleiche Aufspaltungsmuster wie **86**, durch Fehlen des Chlor-Substituenten erscheinen aber zwei Dubletts bei 6.85 und 7.16 ppm, welche von den Signalen der vier Protonen des methoxylierten Aromaten gebildet werden.

Unter gleichen Bedingungen, wie dies für den Ringschluss zum Chinolizin **87** beschrieben, wurde das geschützte Benzamid **96** mit Phosphorylchlorid umgesetzt, anschließend mit ethanolischer KOH-Lösung verseift, nochmals mit Phosphorylchlorid an der Seitenkette chloriert und mit Natriumborhydrid zum Chinolizin **97** reduziert. Die Ausbeute von 15% entsprach nahezu dem bei **87** gefundenen Wert von 13%, so dass eine vorzeitige Chlorierung nach vorliegenden Daten nicht nötig erscheint.

Durch GC/MS und ^1H -NMR-Spektroskopie konnte die Struktur des Chinolizins **97** bestätigt werden. Charakteristisch erscheint im Massenspektrum das $[\text{M}-\text{H}]^+$ -Signal von 264 m/z als Hauptfragment (s. Kap. B.10). Im ^1H -NMR erkennt man ein Singulett bei 5.07 ppm, welches dem Methin-Proton zwischen den Aromaten zugeordnet werden kann, sowie die durch die Methoxy-Substitution ins Hochfeld verschobenen Signale der Protonen H1 und H3, die als Singulett bzw. Doppeldublett überlagert bei 6.76 ppm erscheinen.

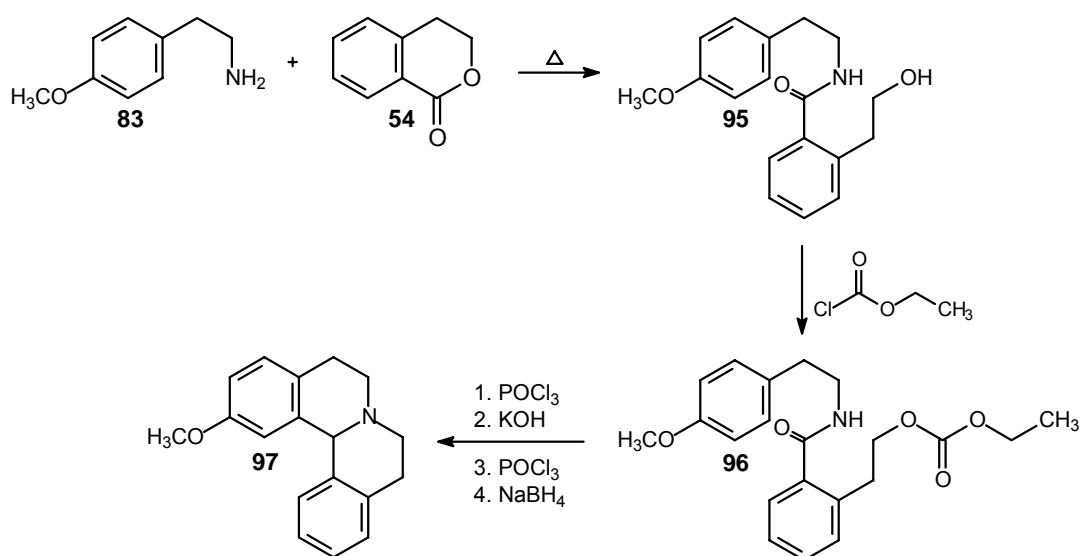


Abb. B.63: Darstellung von 2-Methoxy-5,6,8,9-tetrahydro-13bH-dibenzo[a,h]chinolizin (**97**)

Das aus der quartären Vorstufe **88** gewonnene Dibenz[*d,g*]azecin **90** konnte nur in 22%iger Ausbeute rein isoliert werden, da aufgrund auftretender Nebenreaktionen die Spaltungsdauer auf 13 Minuten reduziert wurde und eine säulenchromatographische Reinigung der Substanz mit anschließender Umkristallisation als Hydrochlorid notwendig war.

Durch GC/MS-Chromatographie und ^1H -NMR, aufgenommen in CDCl_3 , konnte die Struktur von **90** bestätigt werden. Charakteristisch für die Spaltung der benzylichen Bindung erscheint das Signal der Methylen-Gruppe zwischen den Aromaten als Singulett bei ca. 4 ppm, hier bei 4.35 ppm. Die acht aliphatischen Protonen des Azecin-Rings fallen bei 2.47-2.66 ppm zu einem zentrierten Multipllett zusammen, wie dies schon bei dem 3-Methoxyazecin-Derivat **61** in Kapitel B.3.1 beobachtet werden konnte. Die Abspaltung des Chlors lässt sich anhand der aromatischen Signale beweisen. Das Signal des Protons H1 erscheint als Dublett bei 6.75 ppm mit einer Kopplungskonstanten von 2.9 Hz, was nur durch eine meta-Kopplung zum Proton H3 zu erklären ist. Das Signal dieses Protons H3 liegt dagegen bei 6.60 ppm als Doppeldublett vor, mit der meta-Kopplung zu Proton H1 und einer vicinalen Kopplung zu Proton H4. Die Verschiebungen der Signale dieser Protonen lassen sich durch das Substitutionsmuster erklären. Durch die Lage der beiden Aromaten zueinander kommt es zu einer Tieffeldverschiebung der beiden Signale der sich gegenüberliegenden Protonen H1 und H13 (s. Kap. B.2.2), wohingegen dieser Effekt für H1, welches zusätzlich durch die Nachbarschaft zur Methoxy-Gruppe ins Hochfeld verschoben wird, weniger stark ausgeprägt ist. Dadurch erscheint das Signal des Protons H3 am weitesten im Hochfeld, da hier nur der Einfluss der Methoxy-Gruppe relevant ist.

Das Hydroxy-Analogon **91** konnte, wie schon bei anderen Azecin-Derivaten beobachtet wurde, in besseren Ausbeuten erreicht werden, da die Tendenz zu Nebenprodukten bei den Hydroxy-substituierten Azecinen in der Regel weniger stark ausgeprägt ist. Das ^1H -NMR-Spektrum ist ähnlich dem von **90**. Bei 3.67 ppm fehlt das Signal der OCH_3 -Gruppe, stattdessen erscheint bei 9.35 ppm das Signal der phenolischen OH-Substitution als breites Singulett. Wie schon bei anderen Azecin-Hydrochloriden beobachtet werden konnte, spaltet das Signal der NCH_3 -Gruppe bei 2.77 ppm zum Dublett auf (in $[\text{D}_6]$ -DMSO). Das Signal der Methylen-Gruppe zwischen den Aromaten erscheint hier ebenfalls nicht als Singulett, sondern liegt als Doppeldublett bei 4.03 ppm mit einer geminalen Kopplungskonstante von 22 Hz. Charakteristisch für das phenolische Substitutionsmuster erscheint im ^{13}C -NMR bei 156 ppm das Signal des Kohlenstoffs in Position C2.

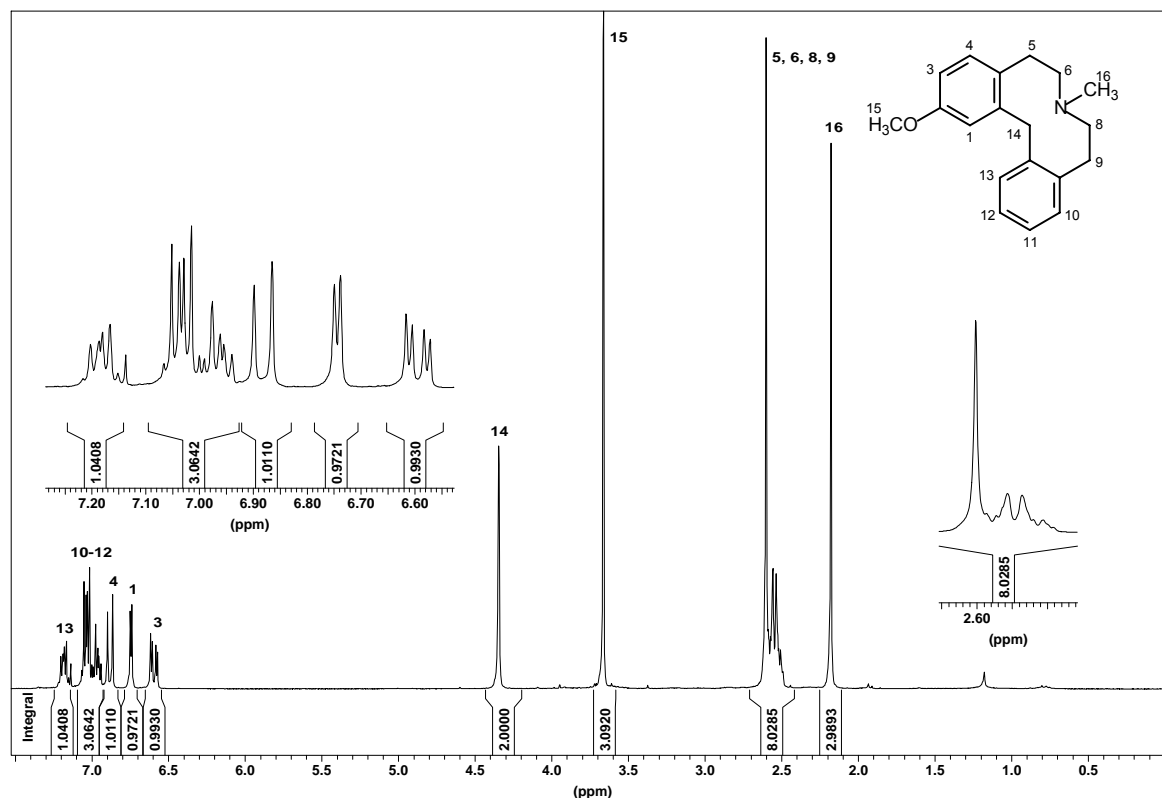


Abb. B.64: $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) von 2-Methoxy-7-methyl-5,6,7,8,9,14-hexahydrodibenz[d,g]azecin (**90**)

B.4.2 Synthese von 1,3-Dichloro-2-methoxy-7-methyl-5,6,7,8,9,14-hexahydrodibenz[d,g]azecin-Hydrochlorid

Wie in Kapitel B.3.3 bereits beschrieben, erschien es aussichtsreich, durch Einführung eines Chlor-Substituenten in ein Dibenz[d,g]azecin eine Aktivitätssteigerung und eine Selektivität an den Dopaminrezeptor-Subtypen zu erreichen. Als Vorbild eines $\text{D}_{1/5}$ -selektiven Liganden diene das von Schering synthetisierte SCH 23390.

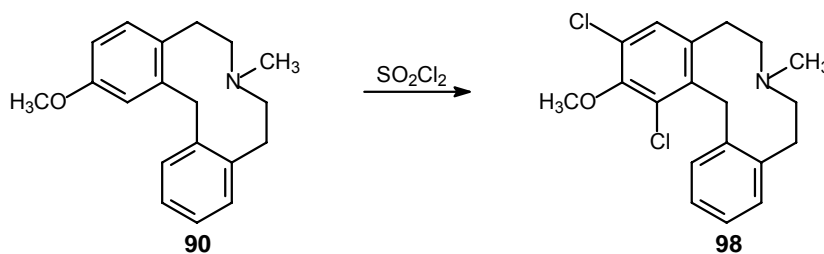


Abb. B.65: Darstellung von 1,3-Dichloro-2-methoxy-7-methyl-5,6,7,8,9,14-hexahydrodibenz[d,g]azecin (**98**)

Ausgehend von **90**, dessen Synthese in Kapitel B.4.1 erläutert wurde, gelang es, durch tropfenweise Zugabe von Sulfurylchlorid in eine Eisessig-Lösung des Edukts, mono- und dichlorierte Produkte zu erhalten. Die Abtrennung des dichlorierten Azecins **98** gelang durch präparative Dünnschichtchromatographie, wohingegen die Isolierung der beiden monochlorierten Produkte misslang (s. Kap. B.4.4). Umsetzung mit etherischer HCl-Lösung und Umkristallisation führten zum reinen Produkt **98**.

Das Massenspektrum der Substanz zeigt den gewünschte Molpeak von 349 m/z an. Im ^1H -NMR, aufgenommen in CDCl_3 , erscheint das für Dibenz[*d,g*]azecine charakteristische Signal der Methylen-Gruppe zwischen den Aromaten bei 4.69 ppm als Singulett. Dieser Wert liegt im Vergleich zu anderen Azecinen, mit Verschiebungen zwischen 4.00-4.30 ppm, leicht im Tieffeld. Des Weiteren lassen sich fünf Signale im aromatischen Bereich des Spektrums bei 6.90-7.13 ppm integrieren, was die zweifache Chlorierung des Aromaten belegt. Bei 6.93 ppm erscheint das Signal des Protons H4 aufgrund fehlender Kopplungspartner als Singulett.

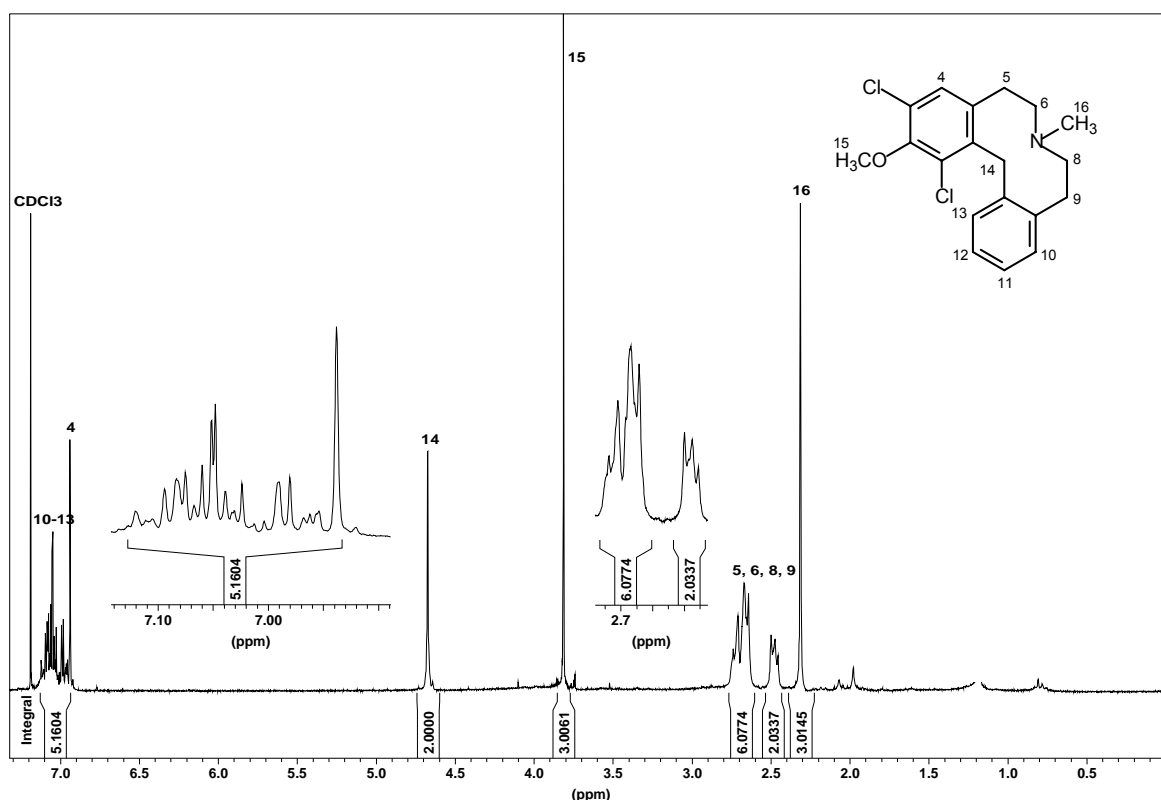


Abb. B.66: ^1H -NMR (CDCl_3) von 1,3-Dichloro-2-methoxy-7-methyl-5,6,7,8,9,14-hexahydrodibenz[*d,g*]azecin (**98**)

B.4.3 Synthese von 1-Chloro- und 3-Chloro-2-hydroxy-7-methyl-5,6,7,8,9,14-hexahydrodibenz[*d,g*]azecin-Hydrochlorid

Bisher gelang es zwar, chlorierte Dibenz[*d,g*]azecine zu synthetisieren (s. Kap. B.3.3 und B.4.2), doch fehlte das direkte, strukturelle Analogon zur Schering-Verbindung SCH 23390. Mit der Substanz **100** gelang es schließlich, ein Azecin mit dem gleichen Substitutionsmuster wie SCH 23390 herzustellen.

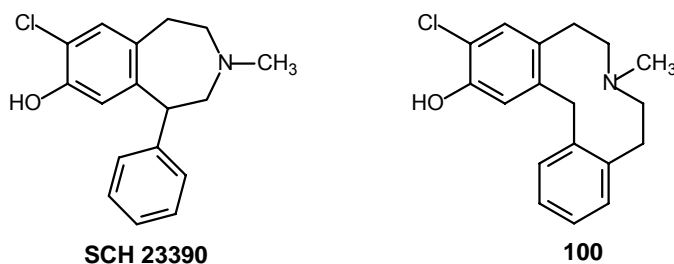


Abb. B.67: Vergleich der Substitutionsmuster zwischen SCH 23390 und dem Dibenz[*d,g*]azecin **100**

Wie im Kapitel B.4.1 bereits erläutert, gelang es nicht, eine Spaltung der benzylichen Bindung unter Erhalt des Chlor-Substituenten zu erreichen. So wurde das Azecin **91** nach Yu *et al.* [Yu, 2001] mit Sulfurylchlorid in Eisessig chloriert. Nach Aufarbeitung des Ansatzes zeigte sich eine bevorzugte Bildung des 1-chlorierten Produktes **99**, was mit der in Kapitel B.3.3 erläuterten Vorstellung übereinstimmt. Durch Versetzen des Gemisches mit etherischer HCl-Lösung und Umkristallisation des Hydrochlorids konnte **99** rein gewonnen werden.

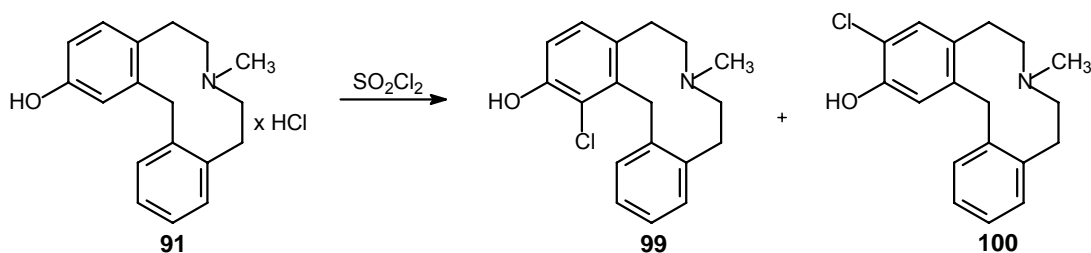


Abb. B.68: Darstellung von 1-Chloro- und 3-Chloro-2-hydroxy-7-methyl-5,6,7,8,9,14-hexahydrodibenz[*d,g*]azecin (**99+100**)

Die Isolierung des ebenfalls entstandenen Azecins **100** erwies sich als aufwendiger, da eine Umkristallisation aufgrund der geringen Menge nicht möglich war. Es gelang schließlich das Gemisch säulenchromatographisch mit Ethanol als Elutionsmittel zu trennen und anschließend **100** als Hydrochlorid umzukristallisieren. Hierzu wurde der Chromatotron[®] verwendet, der aus einer rotierenden Kieselgelscheibe besteht und durch die auftretende Zentrifugalkraft das von innen nach außen fließende Gemisch auftrennt. So ist es möglich, auch Substanzgemische mit sehr ähnlichen R_f -Werten zu trennen. Um Mehrfachchlorierung zu verhindern, wurde bei der Synthese eine 1:1-Mischung aus Edukt und Sulfurylchlorid

verwendet und das Sulfurylchlorid über einen Zeitraum von 2 Stunden tropfenweise zugegeben. Dadurch und aufgrund der aufwendigen Isolierung der Substanzen konnten nur sehr geringe Ausbeuten von 8 bzw. 3 % für **99** bzw. **100** erzielt werden.

Die GC/MS-Daten beider Substanzen zeigen ein nahezu gleiches Fragmentierungsmuster und den gewünschten Molekülpeak von 301 m/z (s. Kap. B.10). Über die ^1H -NMR-Spektren, aufgenommen in MeOD, der beiden Azecine ist dagegen eine eindeutige Strukturaufklärung möglich. Im Spektrum von **99** erscheint das für Dibenz[*d,g*]azecine charakteristische Signal der Methylen-Gruppe zwischen den Aromaten bei 4.43 ppm und im Vergleich zu **100**, dessen Signal bei 4.09 ppm liegt, leicht tieffeldverschoben. Dies lässt sich durch den in 1-Stellung chlosubstituierten Aromaten erklären, da z.B. auch das Methylensignal des dichlorierten 2-Methoxy-Azecin **98** (s. Kap. B.4.2) tieffeldverschoben bei 4.69 ppm erscheint. Bei 6.84 bzw. 7.01 ppm erscheinen zwei Signale als Dubletts, die eindeutig den beiden aromatischen Protonen H3 und H4 zugeordnet werden können und somit die Chlorierung in 1-Position beweisen.

Im ^1H -NMR des Azecins **100** erscheinen dagegen zwei Signale bei 7.02 und 7.20 ppm, die aufgrund eines fehlenden Kopplungspartners als Singulett auftreten. Dies entspricht dem Aufspaltungsmuster des in 3-Stellung chlorierten 2-Hydroxy-Dibenz[*d,g*]azecin **100**. Vergleicht man die Signale der Protonen der beiden chlorierten Azecine, die in Nachbarschaft zur phenolischen OH-Gruppe liegen, fällt bei **100** die relative Tieffeldverschiebung des Signals des Protons H1 auf. Hier wird der hochfeldverschiebende Effekt der OH-Gruppe durch die Lage des Protons zum anderen Aromaten aufgrund einer käfigartigen Struktur der Dibenz[*d,g*]azecine teilweise kompensiert (s. Kap. B.2.1). Da am zweiten Aromaten der beiden Azecine keine weitere Substitution vorliegt, ist dieser Shift ins Tieffeld beim Signal des Protons H13 voll ausgeprägt und erscheint jeweils bei 7.47 ppm. Die Signale der aliphatischen Protonen des Azecinrings liegen bei typischen Werten zwischen 3.0-3.6 ppm, erscheinen aber als mehr oder weniger nicht aufgelöste, überlagerte Multipletts.

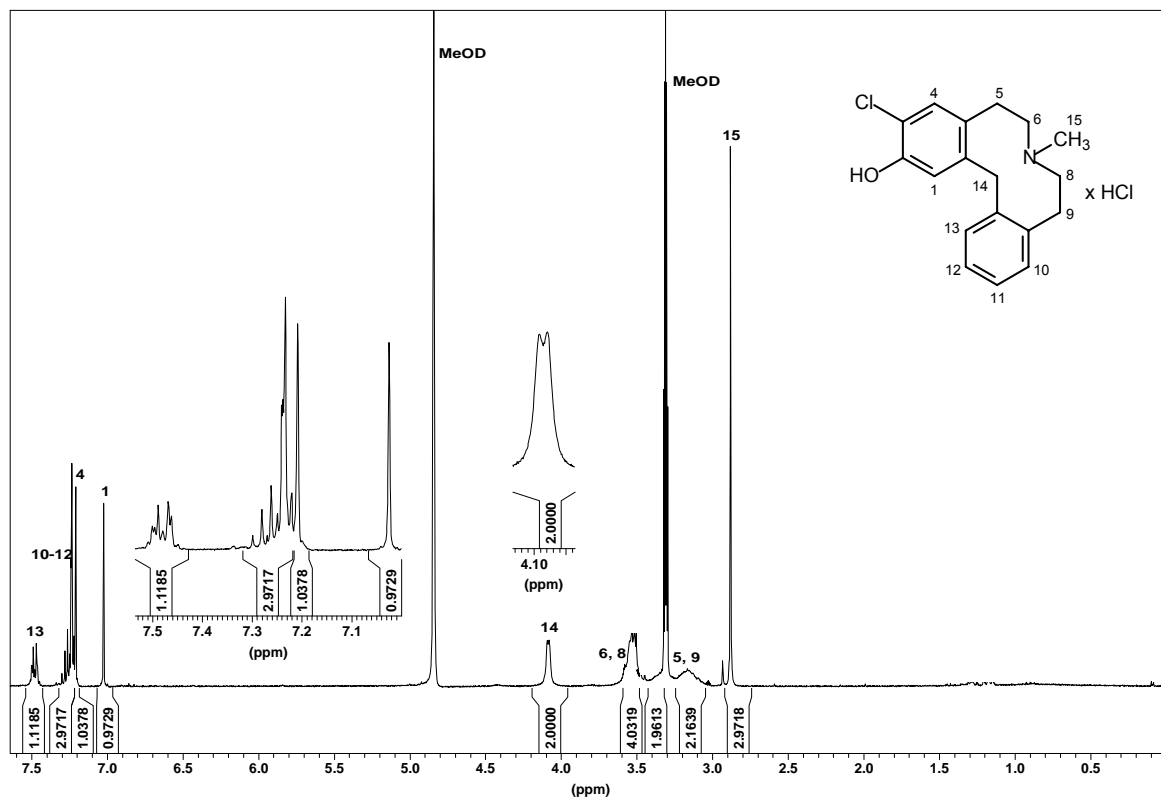


Abb. B.69: ¹H-NMR (MeOD) von 3-Chloro-2-hydroxy-7-methyl-5,6,7,8,9,14-hexahydrodibenz[d,g]azecin-Hydrochlorid (100)

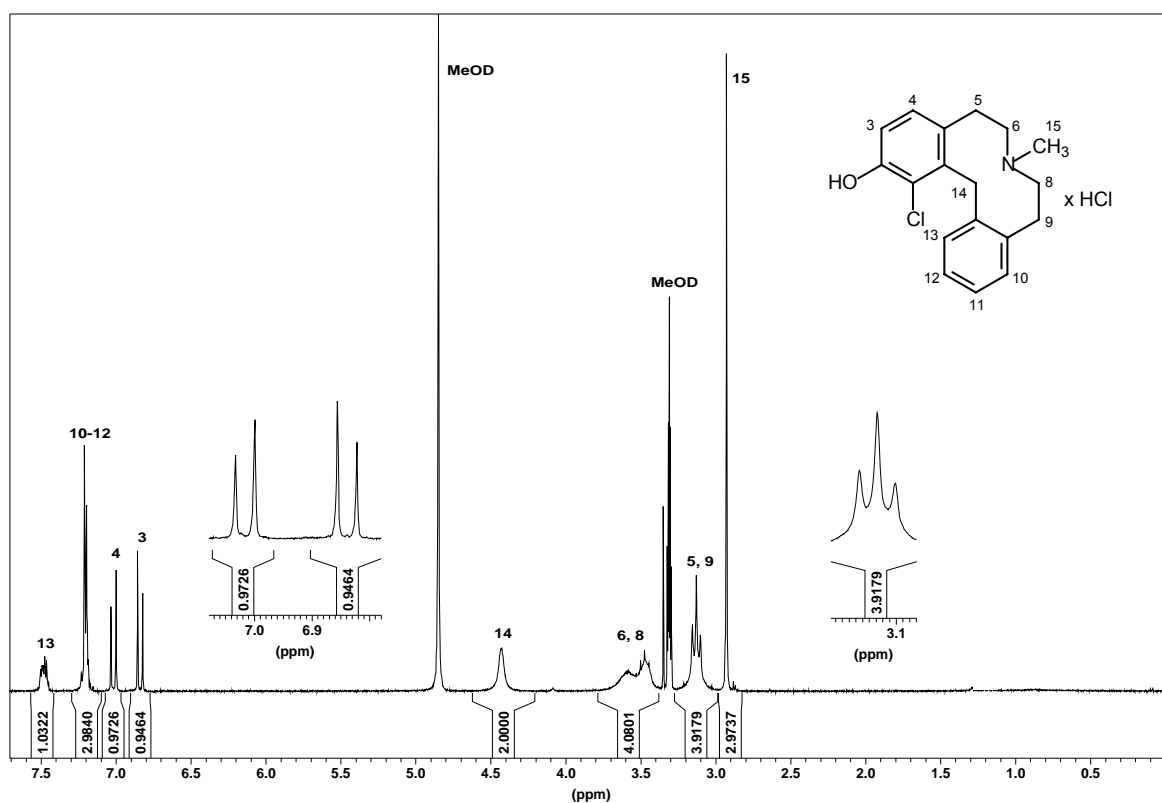


Abb. B.70: ¹H-NMR (MeOD) von 1-Chloro-2-hydroxy-7-methyl-5,6,7,8,9,14-hexahydrodibenz[d,g]azecin-Hydrochlorid (99)

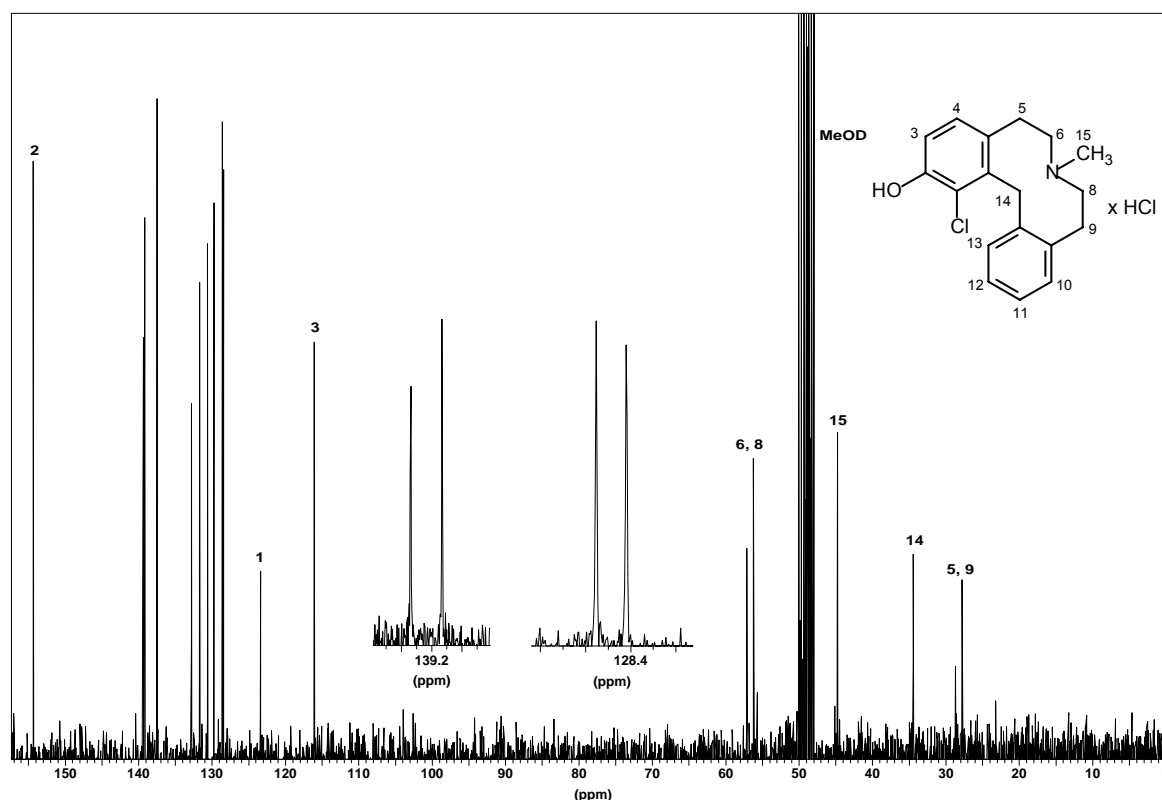


Abb. B.71: ^{13}C -NMR (MeOD) von 1-Chloro-2-hydroxy-7-methyl-5,6,7,8,9,14-hexahydrodibenz[d,g]azecin-Hydrochlorid (**99**)

B.4.4 Syntheseveruche zur Herstellung von 3-Chloro-2-methoxy-7-methyl-5,6,7,8,9,14-hexahydrodibenz[d,g]azecin

Bei der Synthese des dichlorierten Azecins **98** (s. Kap. B.4.2) entstanden, wie bereits erwähnt, auch die beiden monochlorierten Azecine **101** und **102**, die anhand von GC/MS-Daten nachgewiesen werden konnten. Aufgrund der sehr geringen Unterschiede der R_f -Werte beider Substanzen gelang eine säulenchromatographische Trennung nicht, woraufhin versucht wurde, über präparative HPLC eine Trennung zu erreichen. Dabei gelang es in Vorversuchen mittels HPLC mit einem Acetonitril/Wasser(0.2% TFA)-Gemisch (50:50) eine Basislinientrennung zu erzielen. Nach präparativer Trennung konnte leider, vermutlich aus Instabilitätsgründen, kein Produkt isoliert werden. Stattdessen entstanden mehrere nicht zu charakterisierende Nebenprodukte.

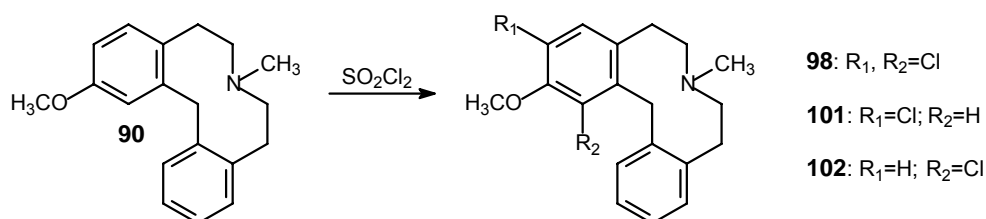


Abb. B.72: Chlorierungsprodukte bei der Umsetzung von **90** mit Sulfurylchlorid

Da weitere Trennungsversuche des Gemisches nicht erfolgsversprechend schienen, wurde nach alternativen Spaltungsmethoden gesucht.

Durch die katalytische Hydrierung mit Platindioxid nach Emde und Kull [Emde, 1936] konnte eine neue Möglichkeit der Spaltung der benzyllischen Bindung gefunden werden (s. Kap. B.9). In ersten Versuchen gelang die Darstellung des 3-Hydroxy-azecins **62** durch Hydrierung aus der quartären Vorstufe **59**. Da dieser Katalysator in der Regel aromatisch gebundenes Chlor nicht reduziert und durch die Wahl eines sauren Lösungsmittels die Abspaltungstendenz generell erschwert werden kann [Houben-Weyl, Reduktionen], erschien diese Methode zur Spaltung des quartären Salzes **88** vielversprechend.

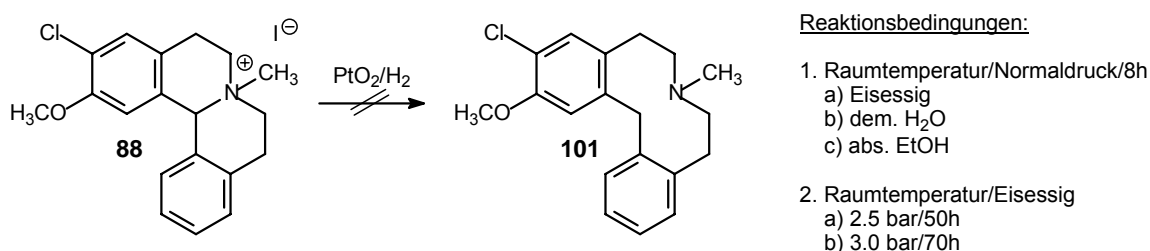


Abb. B.73: Syntheseveruche zur Herstellung von 3-Chloro-2-methoxy-7-methyl-5,6,7,8,9,14-hexahydro-dibenz[d,g]azecin (**101**) mittels katalytischer Hydrierung durch PtO₂

Wie aus Abb. B.73 ersichtlich ist, gelang es jedoch nicht, eine Spaltung der C-N-Bindung zu erreichen. Lediglich unter den Versuchsbedingungen „2b“, bei 3 bar und 70h Reaktionszeit, konnte die Bildung des Azecins **101** mittels GC/MS-Analytik beobachtet werden. Da allerdings nur ca. 5% des gewünschten Produktes neben einer Vielzahl nicht zu identifizierender Nebenprodukte entstanden war, u.a. Hydrierungen am aromatischen System, wurde von einer weiteren Aufarbeitung des Ansatzes abgesehen. Unter den übrigen Reaktionsbedingungen konnte stets nur Edukt **88** isoliert werden.

Danach wurde über Palladium/Kohlenstoff (10%) hydriert. Nach 44 h wurde die Reaktion abgebrochen, da auch hier keine Bildung eines Dibenz[d,g]azecines beobachtet werden konnte. Nach Aufarbeitung konnte als neues Produkt das unchlorierte, quartäre Analogon des Salzes **88** identifiziert werden.

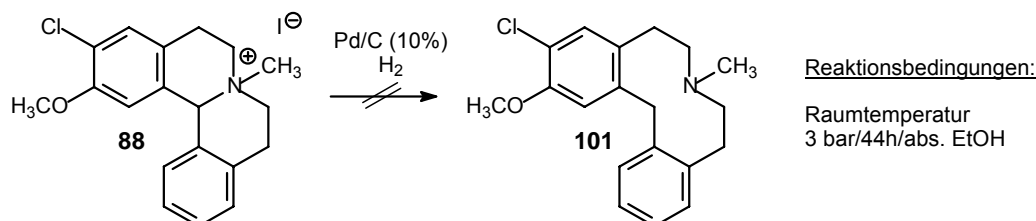


Abb. B.74: Syntheseveruche zur Herstellung von 3-Chloro-2-methoxy-7-methyl-5,6,7,8,9,14-hexahydro-dibenz[d,g]azecin mittels katalytischer Hydrierung durch Pd/C

Da die Darstellung des Azecins **101** durch katalytische Hydrierung scheinbar nicht zu realisieren ist, wurde auf die von Enzensperger [Enzensperger, 2005] modifizierte Methode nach Tanaka *et al.* [Tanaka, 1978] zurückgegriffen (s. Kap. B.3.1 u. B.3.5). Hierbei sollte das Dibenzo[*a,h*]chinolizin **87** bei -76°C in trockenem THF mit Chlorameisensäureethylester 3 h lang zur quartären Zwischenstufe umgesetzt und anschließend ebenfalls bei -76°C mit Natriumcyanoborhydrid zum Urethan **103** gespalten werden. Durch Reduktion des Urethans mit Lithiumaluminiumhydrid könnte dann das Dibenz[*d,g*]azecin **101** gebildet werden. Nach Aufarbeitung des Urethanansatzes konnte durch GC/MS- und ^1H -NMR-Analytik das vermeintliche Produkt eindeutig als das Edukt **87** identifiziert werden.

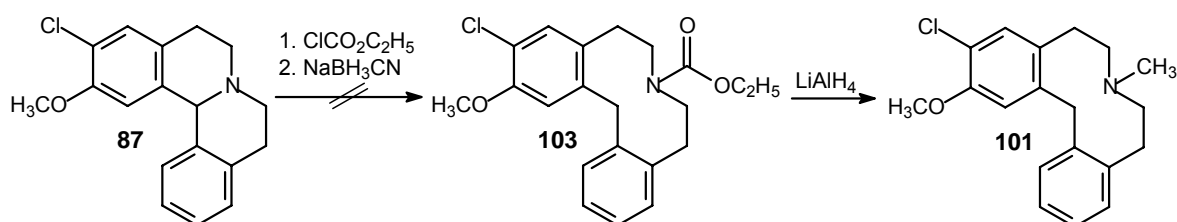


Abb. B.75: Syntheseveruche zur Herstellung von 3-Chloro-2-methoxy-7-methyl-5,6,7,8,9,14-hexahydro-dibenz[*d,g*]azecin (**101**) über Urethanbildung und anschließender Reduktion

Eine weitere Debenzylierungsmöglichkeit wurde in einer Vorschrift von Kametani *et al.* [Kametani, 1969] gefunden. Kametani beschrieb die Debenzylierung von quartären Ammoniumsalzen mit Thiophenol im alkalischen Milieu, in dem ein gebildetes Thiophenolat-Anion als effektives Nukleophil einen Benzylrest abspalten soll.

Die Spaltung von **88** wurde unter gleichen Bedingungen bei 70°C und 8h Reaktionszeit durchgeführt. Als Hauptprodukt konnte das Diphenyldisulfid identifiziert werden, welches durch Dimerisierung eines Thiophenolats mit einem Thiophenol entstanden sein muss. Das gewünschte Produkt wurde im GC/MS mit ca. 0,6%iger Ausbeute detektiert. Als weitere Nebenprodukte entstanden in ähnlich geringen Mengen unter anderem das 3-Chlor-2-Hydroxy-Derivat **100** und die dechlorierten Analoga **90** und **91**.

Aufgrund der sehr schlechten Umsetzung, der Fülle an Nebenprodukten und des extrem geruchsbelästigenden Thiophenols wurde auch dieser Weg nicht weiter verfolgt.

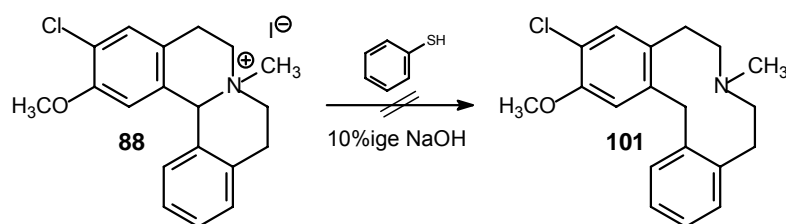


Abb. B.76: Syntheseveruche zur Herstellung von 3-Chloro-2-methoxy-7-methyl-5,6,7,8,9,14-hexahydro-dibenz[*d,g*]azecin (**101**) durch Spaltung mit Thiophenol

Als letzter Versuch wurde nach einer Vorschrift von Kulkarni *et al.* [Kulkarni, 1990] das quartäre Salz **88** mit Natriumhydrid in Dimethylsulfoxid umgesetzt. Kulkarni gelang so die Spaltung des quartären Protoberberin-Alkaloids Stylopin zu einem Tetrahydro-dibenz[*c,g*]azecin.

Durch modifizierte Reaktionsbedingungen konnte zwar nicht das gewünschte Azecin **101** erreicht werden, aber es entstand eine neue Verbindung, die als das Dibenz[*d,g*]azecinon **104** identifiziert werden konnte. Eine Reduktion des Ketons unter verschiedenen Bedingungen führte ebenfalls nicht zum Erfolg, das Azecin **101** zu isolieren. In Kapitel B.7 werden dieses und weitere Azecinone und deren Reduktionsverhalten ausführlich diskutiert.

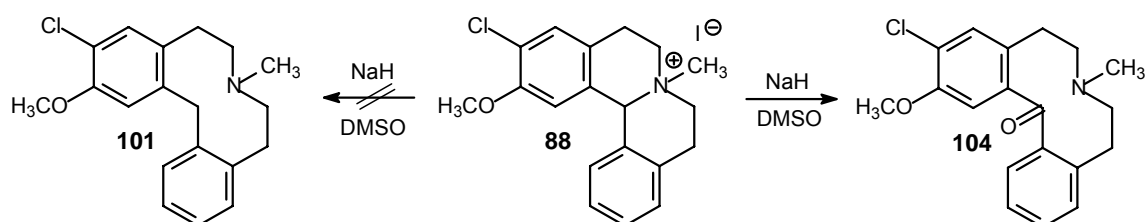


Abb. B.77: Syntheseveruche zur Herstellung von 3-Chloro-2-methoxy-7-methyl-5,6,7,8,9,14-hexahydro-dibenz[*d,g*]azecin (**101**) durch Umsetzung mit NaH/DMSO

Aufgrund dieser Ergebnisse wurde die Suche nach einer Synthesemöglichkeit des Dibenz[*d,g*]azecins **101** eingestellt.

B.5 Synthese von 1-hydroxylierten und 1-methoxylierten Dibenz[*d,g*]azecinen

B.5.1 Synthese von 1-Hydroxy- und 1-Methoxy-7-methyl-5,6,7,8,9,14-hexahydro-dibenz[*d,g*]azecin-Hydrochlorid

Um die Beziehung zwischen der Art der Hydroxylierung und dem Affinitätsprofil an den Dopaminrezeptor-Subtypen genauer untersuchen zu können, wurde ein Azecin synthetisiert, welches in 1-Stellung eine OH-Gruppe aufweist. Danach standen 1-, 2- und 3-hydroxylierte und methoxylierte Azecine zur Verfügung, die durch Radioligandbindungsstudien und im Calcium-Assay miteinander verglichen wurden und neue Einblicke in Struktur-Wirkungs-Beziehungen ergaben.

Ausgehend vom 3-Methoxyphenylethylamin **55** wurde durch Chlorierung mit Sulfurylchlorid nach Yu *et al.* [Yu, 2001] das 2-Chloro-5-methoxyphenylethylamin **105** hergestellt. Yu beschreibt diese Chlorierung anhand von 3-Methoxybenzylamin und erhielt nur zur Methoxy-Gruppe ortho-chlorierte Produkte im Verhältnis 9:1. Dieses konnte bei vorliegender Synthese

nicht bestätigt werden, da hier das para-chlorierte Produkt entstand. Vergleiche mit den Arbeiten von Claudi *et al.* [Claudi, 1992], der 4-Chloro-3-methoxyphenylethylamin ausgehend vom 4-Chloro-3-methoxytoluen synthetisierte, bestätigten die Para-Chlorierung in **105**. Unterschiede beider Substanzen zeigten sich anhand des Schmelzpunktes des Hydrochlorids, 147°C (**105**) und 179°C (4-Chloro-3-methoxyphenylethylamin), und im ^1H -NMR-Spektrum.

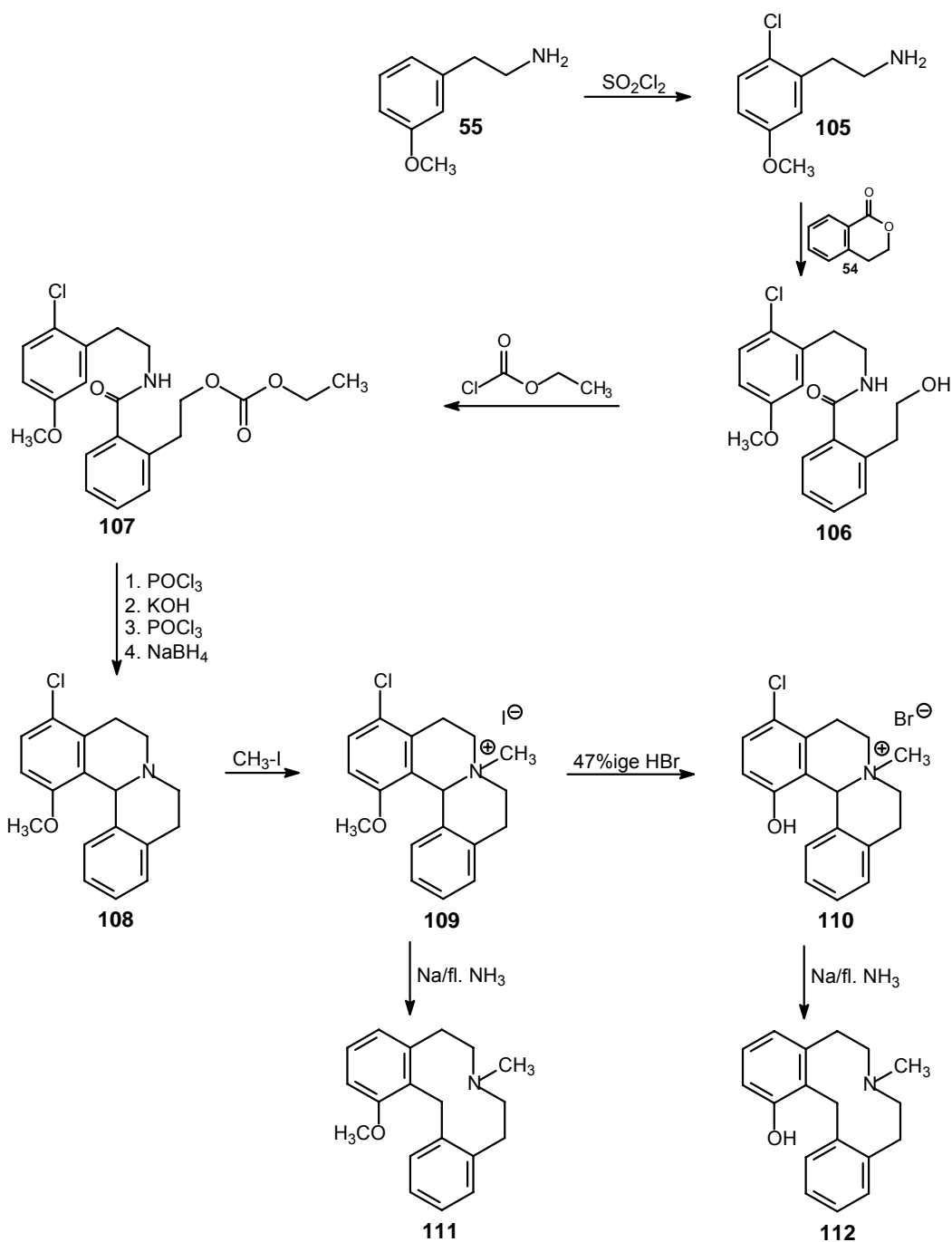


Abb. B.78: Darstellung von 1-Hydroxy- und 1-Methoxy-7-methyl-5,6,7,8,9,14-hexahydrodibenz[d,g]azecin (**111+112**)

Besonders auffällig erscheint beim Amin **105** das Zusammenfallen der Signale der beiden Methylen-Gruppen zu einem Singulett bei 2.99 ppm, während im ortho-chlorierten Amin von Claudi die Signale der beiden Methylen-Gruppen getrennt bei 3.05 und 2.88 ppm als Multiplett bzw. Triplet beschreiben werden. Der Aromatenbereich unterscheidet sich nicht hinsichtlich des Aufspaltungsmusters, jedoch in seinen Kopplungskonstanten. Die bei Claudi beschriebene vicinale bzw. meta-Kopplung von 8 bzw. 2 Hz deckt sich nicht mit den bei **105** gefundenen Werten von 8.7 bzw. 3 Hz. Durch die aufgenommenen ^{13}C -NMR- und DEPT-Spektren konnte die Struktur von **105** nicht eindeutig bewiesen werden. Ebenso ließen die zweidimensionalen Spektren der HMQC (^{13}C - ^1H -Kopplung über eine Bindung) bzw. HMBC-Analytik (^{13}C - ^1H -Kopplung über zwei und drei Bindungen) noch Interpretationsspielraum. Tatsächlich bewiesen werden konnte die Struktur schließlich anhand eines zweidimensional aufgenommenen NOESY-Spektrums, bei dem man sich den Kern-Overhauser-Effekt zunutze macht. Hier werden durch Veränderungen der Signalintensitäten Kopplungen sichtbar, die im normalen ^{13}C - ^1H -Korrelationsspektrum nicht zu sehen sind.

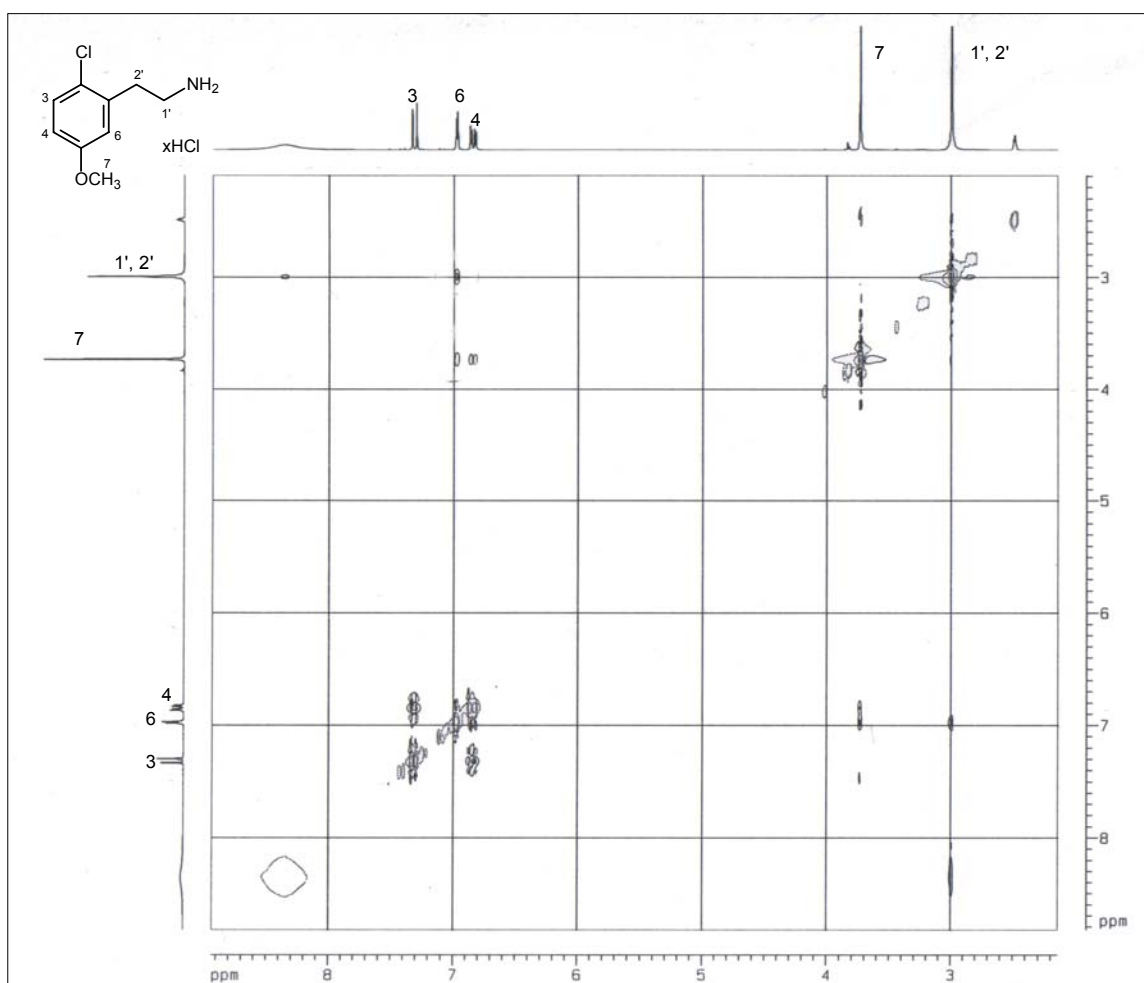


Abb. B.79: NOESY-Spektrum ($[D_6]$ -DMSO von 2-(1-Chloro-4-methoxyphenyl)ethanamin-Hydrochlorid (**105**)

Wie Abb. B.79 zeigt, wird die Kopplung des Signals der Methoxy-Gruppe bei 3.74 ppm mit einem Dublett mit meta-Kopplung ($J = 3.0$ Hz) bei 6.86 ppm und einem Doppeldublett ($J = 3.0, 8.7$ Hz) bei 6.98 ppm sichtbar. In Nachbarschaft zur Methoxy-Gruppe erscheinen also zwei (!) Protonen, die aufgrund ihres Aufspaltungsmusters eindeutig den Signalen der aromatischen Protonen H4 und H6 zugeordnet werden können.

Nachfolgende Aminolyse des Amins **105** mit Isochromanon (**54**) (Synthese s. Kap. B.3.1) bei 120°C für 5 h lieferte das Hydroxyethylbenzamid **106** in geringer Ausbeute von 19%. Im Gegensatz zu anderen bereits synthetisierten Benzamiden konnte **106** nicht zur Kristallisation gebracht werden und wurde daher als Öl nach Schlüter [Schlüter, 1987] weiter mit Chlorameisensäureethylester zum geschützten Benzamid **107** umgesetzt.

Die Einführung einer Schutzgruppe erwies sich als notwendig, da es im nachfolgenden Bischler-Napieralski-Ringschluss mit Phosphorylchlorid aufgrund des nicht aktivierten Aromaten zur Chlorierung des Alkohols der Hydroxyethylseitenkette kam und dies unter Lactamisierung zu einem vorzeitigen Ringschluss führte (s. Kap. B.4.1). Die Inaktivität des Aromaten lässt sich anhand des Substitutionsmusters erklären. Die für diesen Ringschluss attraktivste Position liegt in para-Stellung zur Methoxy-Gruppe, wie bei dem 3-Methoxychinolizin **57**, Kap. B.3.1, beschrieben wurde. Da diese Position aber durch den Chlor-Substituenten besetzt wird, kann eine Zyklisierung nur an der weniger aktiven ortho-Position erfolgen, so dass oben beschriebene Lactambildung bevorzugt abläuft.

Durch hochauflösende Masse und im $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) konnte die Struktur von **107** bestätigt werden. Besonders charakteristisch erscheint das Signal der Methyl-Gruppe des Kohlensäureesters im Hochfeld bei 1.27 ppm als Triplett und die Signale der zur Säurefunktion benachbarten Methylen-Gruppen im tieferen Feld bei 4.14 bzw. 4.38 ppm als Quadruplett bzw. Triplett.

Die Zyklisierung des geschützten Benzamids **107** gelang in einer „Eintopf-Reaktion“ analog dem im Kapitel B.4.1 beschriebenen Weg durch Bischler-Napieralski-Ringschluss mit Phosphorylchlorid bei 120°C für 7h und anschließendem Entschützen der Alkoholfunktion mit ethanolischer KOH-Lösung durch 24stündiges Rühren bei Raumtemperatur. Die freie Alkoholfunktion des Dihydroisochinolin-Derivats wurde dann nochmals mit Phosphorylchlorid chloriert und das Produkt nach Aufarbeitung mit Natriumborhydrid in Methanol zum Dibenzo[*a,h*]chinolizin **108** reduziert. Nach Abdampfen und Reinigung des Ansatzes konnte durch Umkristallisation aus Ether 30% eines weißen Feststoffs gewonnen werden, der als das gewünschte Chinolizin **108** identifiziert werden konnte. Die Ausbeute von 30% liegt damit unter der des leichter zu schließenden 3-Methoxychinolizins **57** (44%), aber höher als die durch die meta-Position deaktivierte Ringschlussstelle des 2-Methoxychinolizins **87** mit 13%.

Im GC/MS erkennt man den für Dibenzo[*a,h*]chinolizine typischen 100%-Peak als $[M-H]^+$ -Signal des Molekülpeaks. Hochauflösende Masse, sowie das 1H -NMR-Spektrum beweisen die Struktur des Chinolizins **108**. Charakteristisch für diese Chinolizine erscheint bei 5.43 ppm das Signal der Methylen-Gruppe zwischen den Aromaten. Die beiden Signale der aromatischen Protonen H2 und H3 erscheinen als Duplett bei 6.81 ppm für H2 und 7.31 ppm für H3 mit einer Kopplungskonstanten von 8.7 Hz.

Durch Quarternisierung des Chinolizins **108** mit Methyljodid in trockenem Aceton konnte das Chinolizinium-Salz **109** gewonnen werden, welches durch 4stündiges Erhitzen unter Rückfluss in 47%iger HBr-Lösung zum ethergespaltenen, quartären Salz **110** umgesetzt werden konnte. Beide quartären Verbindungen konnten unter den Bedingungen einer Birch-Reduktion mit Natrium in flüssigem Ammoniak (s. Kap. B.2.2) zu den jeweiligen Dibenz[*d,g*]azecinen **111** bzw. **112** gespalten werden und wurden nach Aufarbeitung als Hydrochlorid umkristallisiert. Wie in Kapitel B.4.1 bereits erläutert wurde, konnte die benzyliche Bindung der Chinolizinium-Salze **109** und **110** auch hier nur unter Verlust des Chlor-Substituenten gespalten werden. Die Einführung eines Chloratoms fungierte also als „Schutzgruppe“, um den Bischler-Napieralski-Ringschluss in ortho-Position zur Methoxy-Gruppe zu erzwingen.

Die Ausbeuten von **111** mit 10% fielen wieder wesentlich geringer aus, als die des Hydroxy-substituierten Azecins **112** mit 64% (s. Kap. B.3.1). Die Struktur beider Azecine konnte durch Massenspektrometrie und 1H -NMR-Daten gesichert werden. Charakteristisch liegen die Signale der Methylen-Gruppe zwischen den Aromaten beider Azecine bei 4.20 ppm, was die Spaltung der C-N-Bindung beweist. Bei den Hydrochloriden erscheinen die Signale als Doppeldoublets mit $J = 14.5$ bzw. 14.8 Hz (MeOD). Dies konnte schon bei anderen Azecin-Hydrochloriden beobachtet werden (s. Kap. B.4.1). Die Signale der Methylen-Gruppen des Azecinrings erscheinen als überlagerte Multipletts. Die Hydroxy-Substitution in 1-Stellung des Aromaten konnte eindeutig anhand des Aufspaltungsmusters erkannt werden. Im 1H -NMR des Hydroxy-Azecins **112** erscheinen bei 6.70 und 6.78 ppm je ein Doppeldoublet mit vicinaler und meta-Kopplung, die den Signalen der Protonen H2 und H4 zugeordnet werden können. Beide Signale koppeln mit dem bei 7.02 ppm liegenden Triplett, welches als Proton H3 identifiziert wurde. Auch im 1H -NMR-Spektrum von **111** sind die hochfeldverschobenen Doppeldoublets zu beobachten, jedoch fällt das Triplett mit dem gebildeten Multiplett der Protonen des zweiten Aromaten zusammen. Ebenfalls charakteristisch für Dibenz[*d,g*]azecine erscheint das Signal des Protons H13 tieffeldverschoben bei 7.59 ppm für **111** bzw. 7.76 ppm für **112** (s. Kap. B.2.2 bzw. B.6).

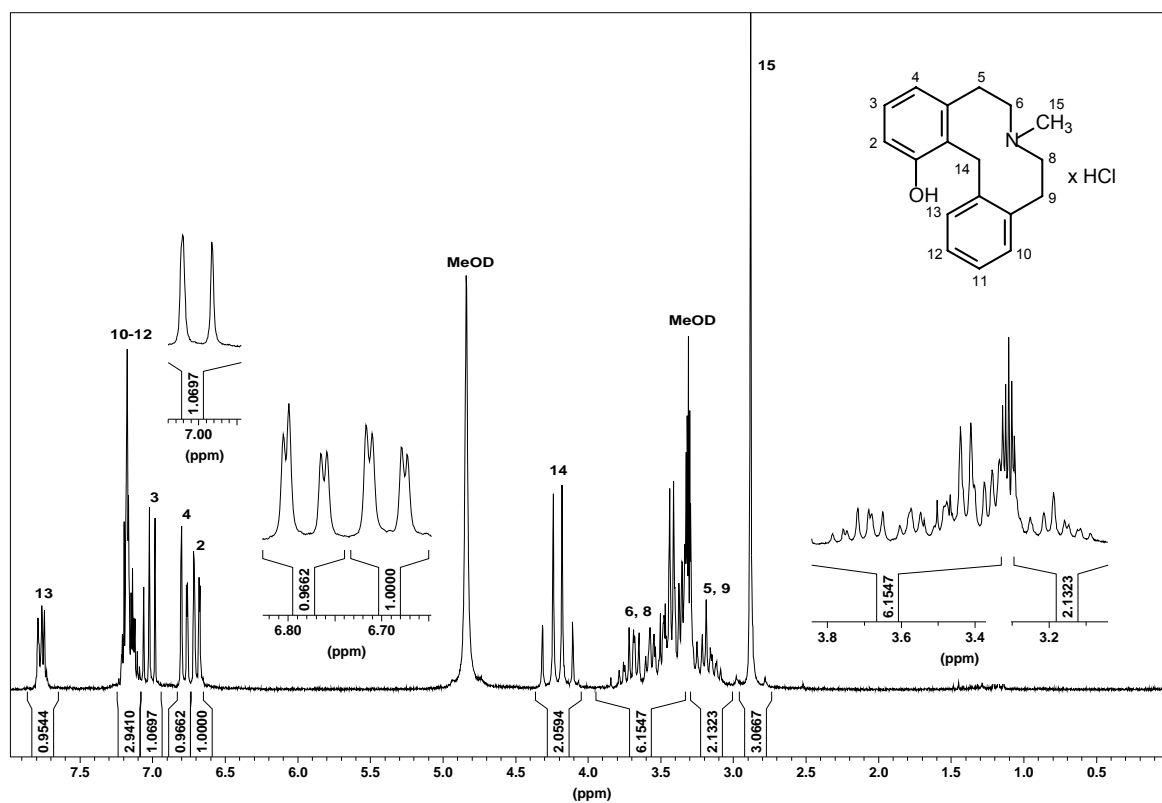


Abb. B.80: ^1H -NMR (MeOD) von 1-Hydroxy-7-methyl-5,6,7,8,9,14-hexahydrodibenz[d,g]azecin (112)

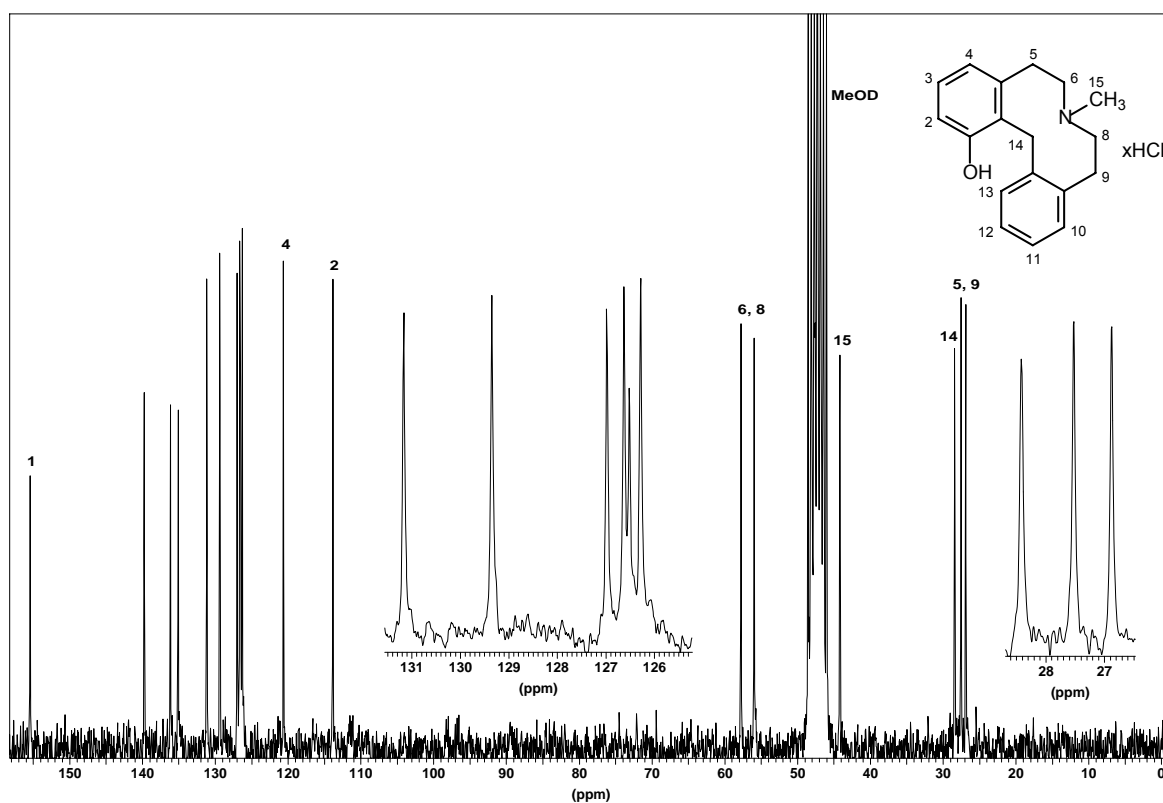


Abb. B.81: ^{13}C -NMR (MeOD) von 1-Hydroxy-7-methyl-5,6,7,8,9,14-hexahydrodibenz[d,g]azecin (112)

B.6 Synthese von 3,11-dihydroxylierten und 3,11-dimethoxylierten Dibenz[*d,g*]azecinen

B.6.1 Synthese von 3,11-Dihydroxy- und 3,11-Dimethoxy-7-methyl-5,6,7,8,9,14-hexahydrodibenz[*d,g*]azecin-Hydrochlorid

Da eine Hydroxy-Gruppe aktivitätssteigernd wirkt (**LE 404**), sollten Dibenz[*d,g*]azecine synthetisiert werden, die an beiden aromatischen Ringen hydroxyliert sind.

Die Synthese der 3,11-dihydroxylierten bzw. dimethoxylierten Azecine verlief im Wesentlichen analog dem in Kapitel B.3.1 beschriebenen Reaktionsmechanismen. Aufwendig gestaltete sich die Herstellung des 6-Methoxyisochromanons **117**. Ausgehend von 3-Methoxyphenylelessigsäure (**113**) konnte nach einer von Hunter *et al.* [Hunter, 1949] beschriebenen Methode durch Reduktion mit Lithiumaluminiumhydrid in trockenem THF der Phenylethylalkohol **114** in 80%iger Ausbeute synthetisiert werden. Anschließender Ringschluss zum Isochroman **116** gelang nach Unterhalt *et al.* [Unterhalt, 1996], der in seinem Review die Synthese verschieden substituierter Isochromane vorstellt. Durch Einleiten von trockenem HCl-Gas in ein auf -10°C gekühltes Gemisch aus Paraformaldehyd und **114** entstand zunächst als Zwischenprodukt der Chlor-methyl-2-phenylethylether **115**, der spontan zu **116** cyclisierte. Nachfolgende Oxidation zum 6-Methoxy-isochromanon **117** gelang mit Kaliumpermanganat unter Phasentransferkatalyse nach dem schon in Kapitel B.3.1 beschriebenen Reaktionsweg. Anhand von GC/MS-Daten konnte als Nebenprodukt (ca. 10%) das 8-Methoxyisochromanon identifiziert werden, die Abtrennung gelang durch Umkristallisation aus Ether.

In Anlehnung an Meise *et al.* [Meise, 1976], gelang die Aminolyse zu **118** durch 2stündiges Erhitzen von **117** mit 3-Methoxy-phenylethylamin bei 140°C . Charakteristisch erscheint im $^1\text{H-NMR}$ das verbreiterte Triplett des Amids bei 6.34 ppm und das Triplett der der Alkoholfunktion benachbarten Methylen-Gruppe im Tieffeld bei 3.89 ppm.

Die in para-Stellung zur Methoxy-Gruppe aktivierte Position des Aromaten begünstigte den Bischler-Napieralski-Ringschluss des Amids **118** zu **119**, so dass ein Schützen des Alkohols der Hydroxyethylseitenkette nicht nötig war (s. Kap. B.4.1). Die Darstellung von **119** gelang ebenfalls nach dem bei Meise für ähnliche Dibenzo[*a,h*]chinolizine beschriebenen Weg durch 5stündiges Erhitzen bei 120°C mit Phosphorylchlorid und Reduktion mit Natriumborhydrid. Im $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum von **119** erscheint bei 4.98 ppm das typische Signal des Methinprotons zwischen den Aromaten. Aufgrund der Symmetrie des Moleküls fallen die Signale der Methyl-Protonen der OCH_3 -Gruppen bei 3.77 ppm als Singulett zusammen.

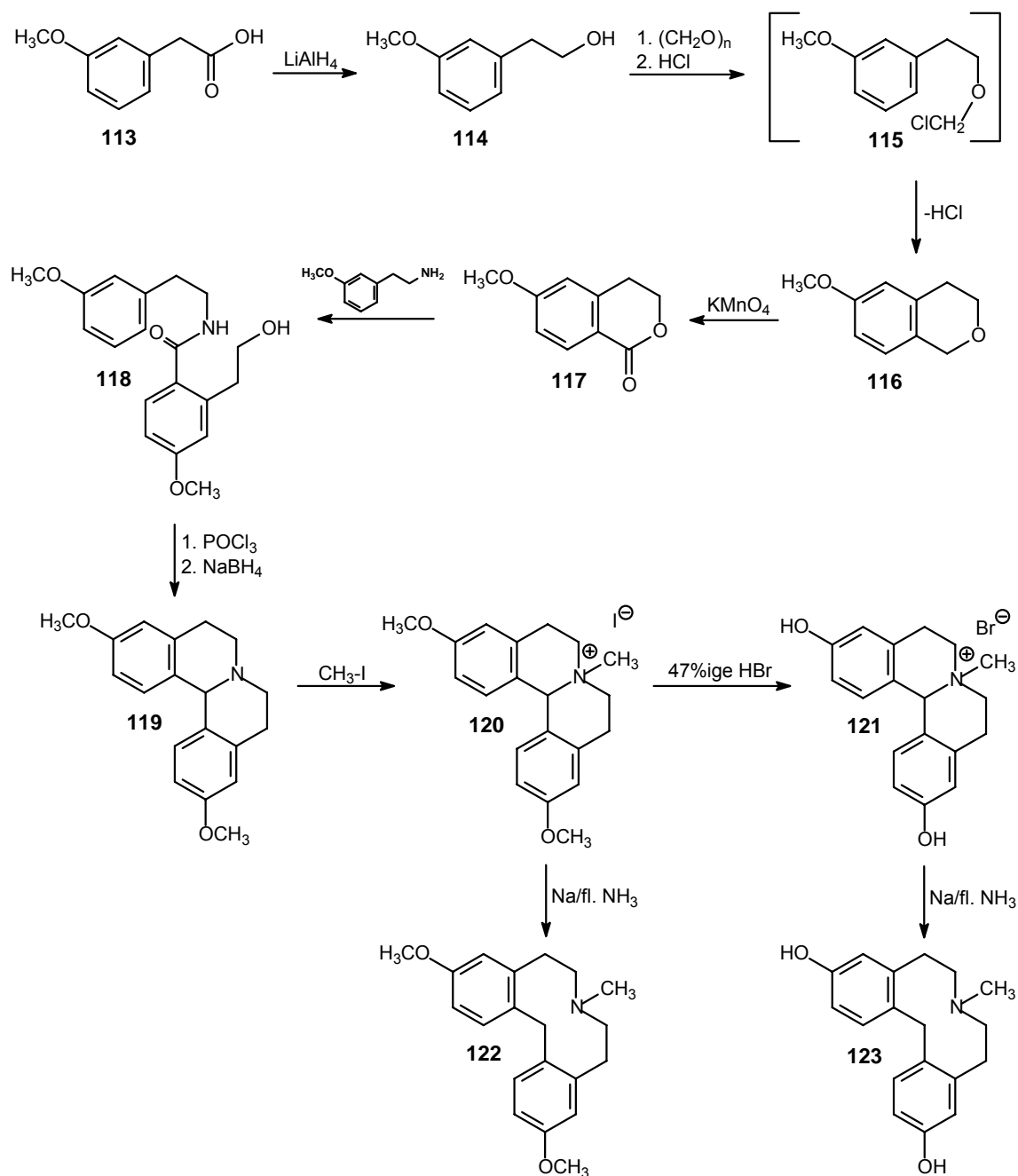


Abb. B.82: Darstellung von 3,11-Dihydroxy- und 3,11-Dimethoxy-7-methyl-5,6,7,8,9,14-hexahydro-dibenz[d,g]azecin (**122+123**)

Quarternisierung des Chinolizins **119** mit Methyljodid in trockenem Aceton führte zum Chinoliziniumsalz **120**, welches wiederum durch Spaltung der Methoxy-Gruppe mit 47%iger HBr -Lösung zum phenolischen, quartären Salz **121** umgesetzt werden konnte. Beide quartären Salze erzeugen im $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum bei 5.79 bzw. 5.68 ppm das Singulett des Methinprotons zwischen den Aromaten, das im Vergleich zum Signal des Chinolizins ins Tieffeld verschoben wird. Wie zu erwarten, fehlt im Spektrum von **121** das Signal der sechs

Protonen der beiden Methyl-Gruppen bei 3.76 ppm. Stattdessen erscheint bei 9.69 ppm ein Singulett der phenolischen OH-Gruppen.

Nachfolgende Spaltung von **120** und **121** gelang mit Natrium in flüssigem Ammoniak (s. Kap. B.2.2) und führte zu **122** und **123**. Durch aufwendige Reinigung und Umkristallisation als Hydrochlorid konnten nur 14% des Dimethoxy-Azecins **122** sauber isoliert werden, während das Dihydroxy-Derivat **123** als Base in 38%iger Ausbeute rein erhalten werden konnte. Auffällig ist der sehr hohe Schmelzpunkt der Base von 225°C.

Beide Azecine konnten sowohl mittels GC/MS-Chromatographie (s. Kap. B.10), als auch durch ^1H -NMR-Analytik eindeutig nachgewiesen werden. Durch die Symmetrie der Moleküle erhält man ein relativ einfaches ^1H -NMR-Spektrum mit einer gedachten Symmetrieachse, die längs der C-N-Bindung zwischen den Aromaten verläuft, so dass z.B. im Spektrum des Azecins **123** die Signale aller acht Methylen-Gruppen des Azecinrings zu einem Singulett bei 2.97 ppm zusammenfallen. Da das Spektrum des Azecins **122** als Hydrochlorid vermessen wurde, spalten sich hier diese Signale auf, wobei die zum Aromaten benachbart liegenden Methylen-Gruppen bei 3.23 ppm und die neben dem Stickstoff liegenden Protonen bei 3.54 ppm erscheinen. Das für Dibenz[*d,g*]azecine charakteristische Signal der Methylen-Gruppe zwischen den Aromaten erscheint hier bei 4.03 ppm (**122**) bzw. 4.23 ppm (**123**). Das Aufspaltungsmuster der Aromatensignale beider Verbindungen ist nahezu identisch. Die durch den Hydroxy-Substituenten der Verbindung **123** ins Hochfeld verschobenen Signale der Protonen H4 und H11 erscheinen bei 6.73 ppm als Dublett mit einer meta-Kopplung ($J = 2.7$ Hz) zu den Doppeldubletts der Protonen H2 und H12, die bei 6.79 ppm liegen. Weiter im Tieffeld bei 7.31 ppm erscheinen die Signale der Protonen H1 und H13 als Dublett, die sich mit ihren benachbarten Protonen H2 bzw. H12 die Kopplungskonstante von $J = 8.2$ Hz teilen. Diese Tieffeldverschiebung, die bei allen Dibenz[*d,g*]azecinen zu beobachten ist, wurde in Kapitel B.2.2 bereits näher erläutert und mit einer niedrigeren Abschirmung dieser zwei Protonen aufgrund der räumlichen Lage des Moleküls begründet. Da die Lage der Signale der Protonen H1 und H13 in den Dihydroxy- bzw. Dimethoxy-Azecinen **122** bzw. **123** aufgrund der Symmetrie der Moleküle und der Aufspaltung zum Dublett eindeutig nachgewiesen werden kann, bestätigt sich das oben diskutierte Ergebnis.

Ebenso eindeutig lassen sich die Signale des ^{13}C -NMR-Spektrums von **123** zuordnen. Sämtliche Signale der Kohlenstoffe erscheinen hier paarweise, so dass z.B. die Kohlenstoffe C3 und C11 durch die OH-Gruppe bei 154.53 ppm zusammenfallen. Die Kohlenstoffe C14 zwischen den Aromaten und C15 der N-Methyl-Gruppe erscheinen als einzelne Signale bei 35.01 bzw. 45.38 ppm.

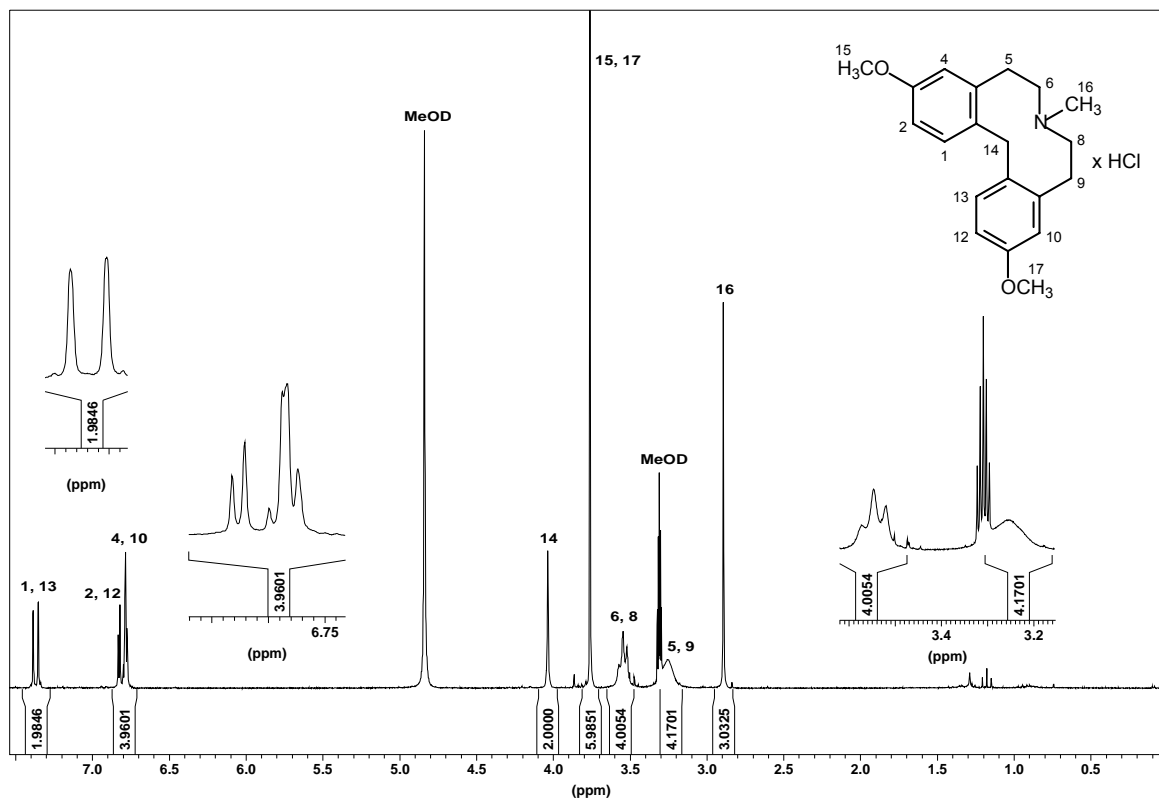


Abb. B.83: $^1\text{H-NMR}$ (MeOD) von 3,11-Dimethoxy-7-methyl-5,6,7,8,9,14-hexahydrodibenz[d,g]azecin-Hydrochlorid (122)

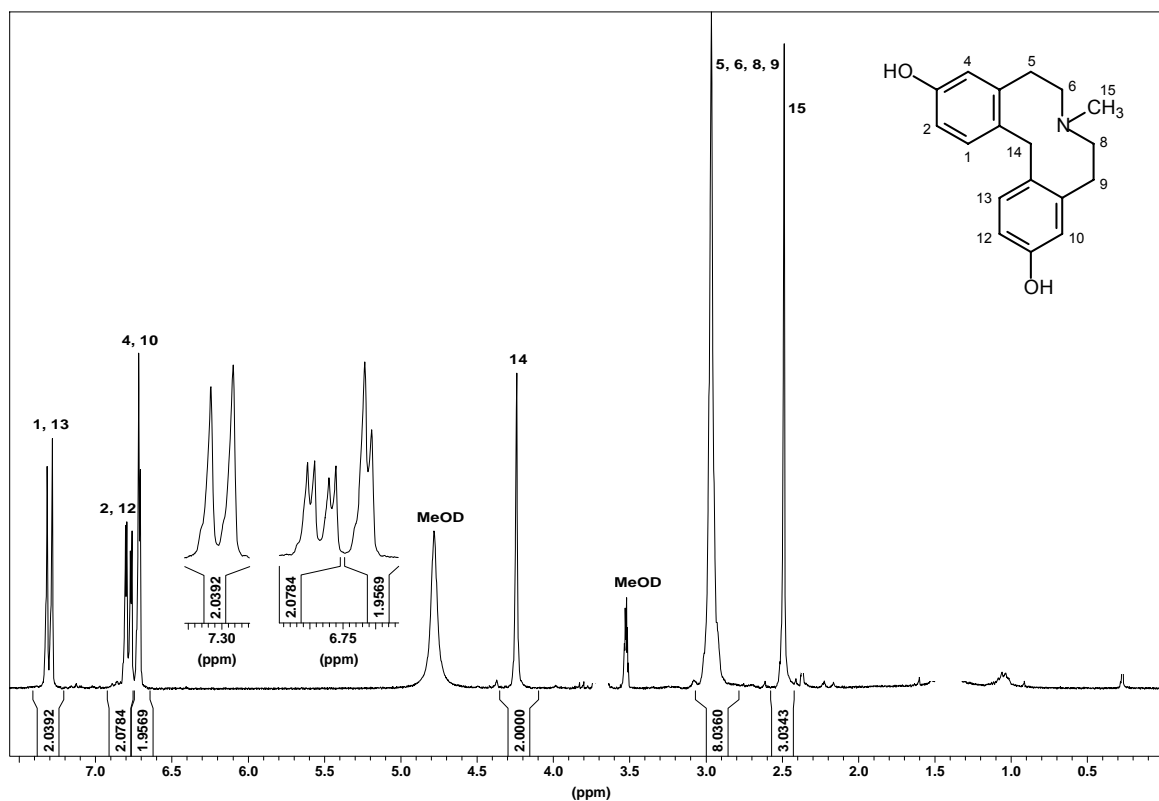


Abb. B.84: $^1\text{H-NMR}$ (MeOD) von 3,11-Dihydroxy-7-methyl-5,6,7,8,9,14-hexahydrodibenz[d,g]azecin (123)

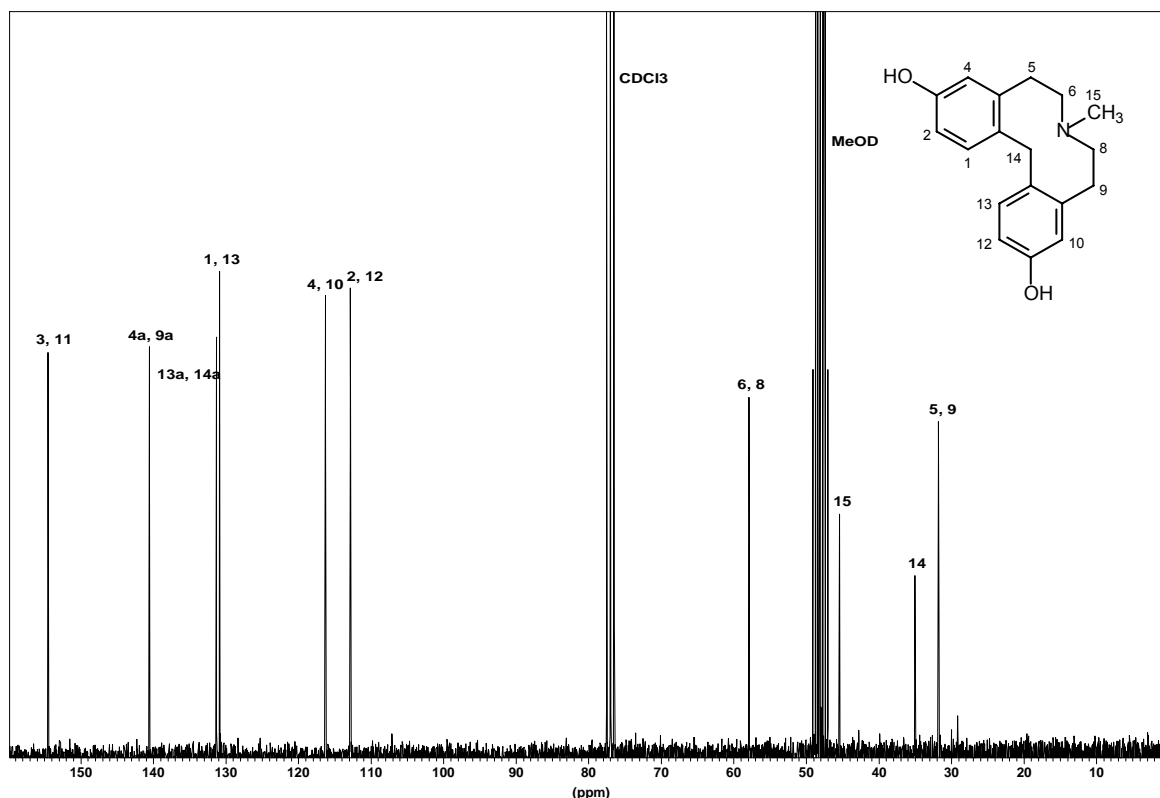


Abb. B.85: ^{13}C -NMR (MeOD) von 3,11-Dihydroxy-7-methyl-5,6,7,8,9,14-hexahydrodibenz[d,g]azecin (**123**)

B.7 Synthese substituierter Dibenz[d,g]azecin-14(5H)-one

B.7.1 Synthese von 7-Methyl-6,7,8,9-tetrahydrodibenz[d,g]azecin-14(5H)-on-Hydrochlorid

Auf der Suche nach einer Möglichkeit, das 3-Chloro-2-methoxydibenz[d,g]azecin **101** zu synthetisieren (s. Kap. B.4.4), wurde eine Spaltungsmethode entwickelt, die zu der neuen Klasse der Dibenz[d,g]azecinone führte. Diese in einer Arbeit von Kulkarni *et al.* [Kulkarni, 1990] beschriebene Reaktion basiert auf der Spaltung der zentralen C-N-Bindung des quartären Salzes Stylopin (**126**) mit Natriumhydrid in DMSO zum Dibenz[c,g]azecin **127**.

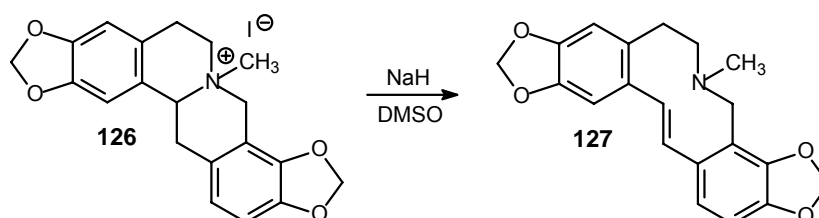


Abb. B.86: NaH/DMSO-Spaltung nach Kulkarni

Hierzu wurde das quartäre Chinolizinium-Salz **43** in DMSO gelöst und bei Raumtemperatur mit Natriumhydrid versetzt. Nach Aufarbeitung der Lösung konnten zwei Produkte isoliert werden, die sich als das Azecinon **124** und das durch Hofmann-Abbau erhaltene Derivat **125** erwiesen.

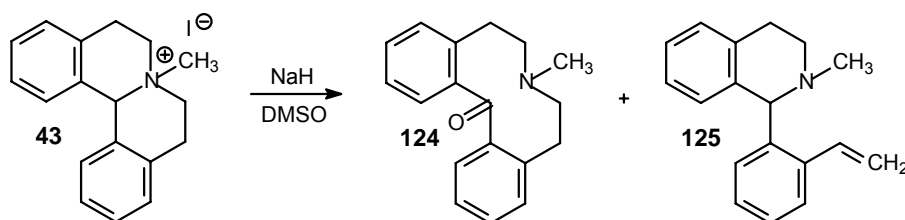


Abb. B.87: Darstellung von 7-Methyl-6,7,8,9-tetrahydrodibenz[d,g]azecin-14(5H)-on (**124**)

Zur Aufklärung des Reaktionsmechanismus wurden mehrere Versuche unter verschiedenen Bedingungen durchgeführt. Dabei stellte sich heraus, dass durch portionsweise Zugabe von kleinsten Mengen Natriumhydrid bei Raumtemperatur über mehrere Stunden zu einer Lösung des quartären Salzes **43** in DMSO das Azecinon **124** zu 90% neben geringen Mengen von **125** gebildet wurde. Eine Trennung beider Stoffe gelang durch Umkristallisation aus Ether, da Azecinone dort schwer löslich sind. Die Ausbeute an **125** konnte durch Versetzen der Lösung mit größeren Mengen Natriumhydrid gesteigert werden. Durch rasche Zugabe einer warmen Suspension aus Natriumhydrid in DMSO zu einer Lösung des Salzes **43** in DMSO wurde dagegen fast ausschließlich das „Hofmann-Produkt“ **125** gebildet.

Weiterhin wurde die Reaktion unter Stickstoffatmosphäre durchgeführt, was zu gleichen Produkten führte. So konnte sichergestellt werden, dass der Sauerstoff der Keto-Gruppe des Azecinons **124** vom DMSO geliefert wurde und nicht durch andere Oxidationsreaktionen entstand.

Durch alleiniges Behandeln des Salzes **43** mit DMSO konnte wie erwartet nur Edukt isoliert werden.

Wie aus der Literatur allgemein bekannt, z.B. [Beyer, 1991], reagiert DMSO mit Natriumhydrid leicht zum stark basischen bzw. nukleophilen Methylsulfinylcarbanion (s. Abb. B.88). Kulkarni *et al.* [Kulkarni, 1990] beschrieb dagegen, dass unter den angegebenen Bedingungen durch Rühren bei Raumtemperatur kein Carbanion gebildet wurde und das Azecin **127** rein gewonnen werden konnte. Durch die stark basische Reaktion eines solchen Carbanions würden sich die Protoberberin-Derivate durch Hofmann-Abbau zu ringgeöffneten Produkten, analog der Struktur **125**, umsetzen.

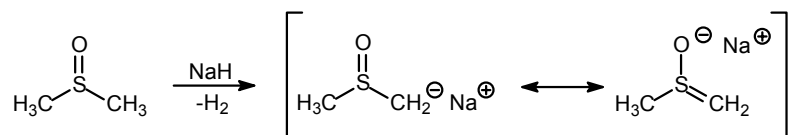


Abb. B.88: Darstellung des Methyldesulfoniylcarbanions

Aufgrund dieser in der Literatur beschriebenen Daten und den durchgeführten Versuchen, wird folgender Reaktionsmechanismus postuliert:

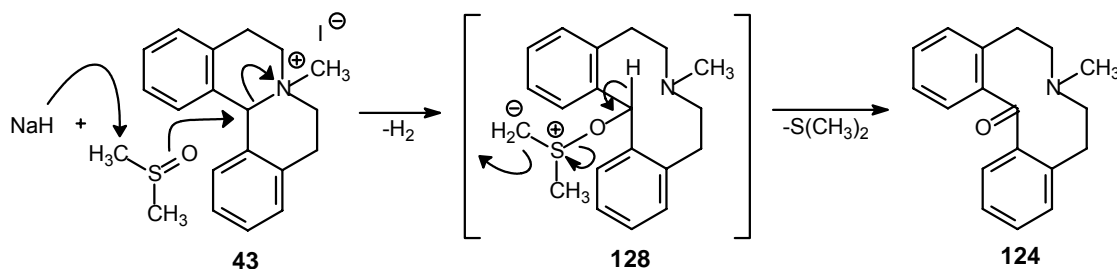


Abb. B.89: Reaktionsmechanismus zur Bildung des Azecinons **124**

Das durch Natriumhydrid deprotonierte DMSO bildet ein Nucleophil, welches über den Sauerstoff die benzyliche Position der Verbindung **43** angreift. Dies führt zur Spaltung der C-N-Bindung unter Bildung des Azecinrings. Das instabile Intermediat **128** zerfällt in einem zyklischen Mechanismus unter Abspaltung des benzylichen Protons und Bildung der Keto-Gruppe zum Azecinon **124** und am Geruch zu erkennendes Dimethylsulfid.

Dieser postulierte Mechanismus deckt sich mit der von Torssell [Torssell, 1966] veröffentlichten Reaktion, in der Alkoxydimethylsulfoniumionen mit Basen oder durch Hitze über einen zyklischen Mechanismus, wie oben beschrieben, in die entsprechenden Ketone und Dimethylsulfid gespalten werden konnten.

Die Zugabe von Natriumhydrid im Überschuss führte dagegen hauptsächlich zum „Hofmann-Produkt“, was neben Kulkarni z.B. auch Kirby *et al.* [Kirby, 1978] bei Alkaloiden vom Berberin-Typ beobachten konnte. Hier wurden ebenfalls quartäre Ammoniumverbindungen mit starken Basen durch Abspaltung des Protons am β -C-Atom zu den tertiären Aminen und den entsprechenden Alkenen umgesetzt.

Da bei überschüssigem Natriumhydrid in DMSO mehr Basizität produziert wird, ist eine Deprotonierung von **43** begünstigt, was überwiegend zur Bildung der Verbindung **125** führt (s. Abb. B.90).

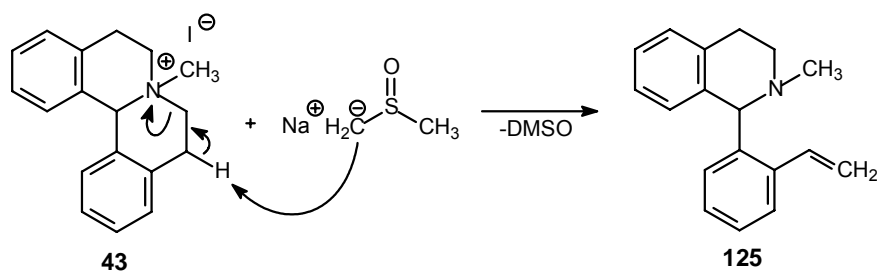


Abb. B.90: Reaktionsmechanismus zur Bildung des Hofmann-Produktes **125**

Beide Verbindungen **124** und **125** konnten massenspektrometrisch und durch Kernresonanz-Spektroskopie eindeutig nachgewiesen werden. Im ^1H -NMR-Spektrum des Azecinons **124** liegen die Signale der acht Protonen als Multiplett zwischen 7.16 und 7.44 ppm und das überlagerte Signal der acht aliphatischen Protonen zwischen 2.2 und 3.1 ppm. Neben dem Singulett der Methyl-Gruppe bei 2.04 ppm erscheinen keine weiteren Signale im Spektrum, besonders charakteristisch ist das Fehlen der Methylen-Gruppe zwischen den Aromaten bei ca. 4 ppm, so dass die „normale“ Azecin-Struktur ausgeschlossen werden konnte. Im GC/MS konnten zwei Produkte mit den Massen 265 m/z und 248 m/z detektiert werden. Das Fragmentierungsmuster der Substanz mit der Masse 265 m/z entsprach dem für Dibenz[d,g]azecine typischen Muster und zeigte neben dem gewünschten Molpeak die charakteristischen Fragmente 193, 179, 165 und 146 m/z, die im Kapitel B.10 näher erläutert werden.

Abundance

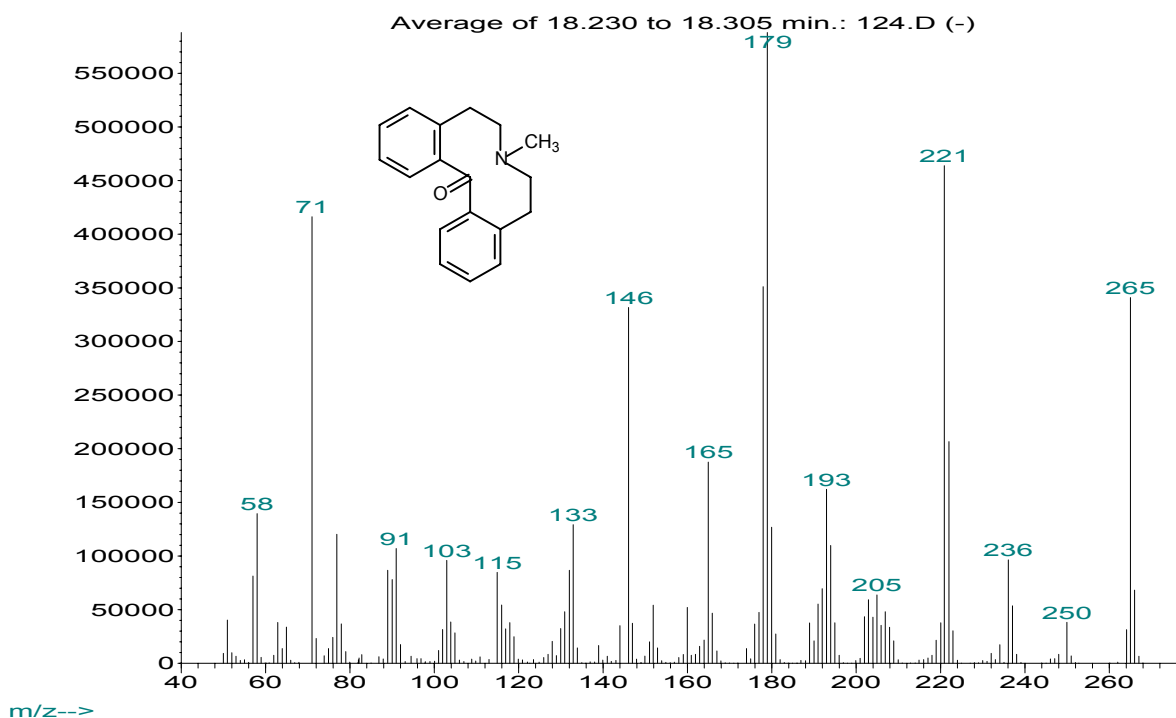


Abb. B.91: Massenspektrum von 7-Methyl-6,7,8,9-tetrahydrodibenz[d,g]azecin-14(5H)-on (**124**)

Die Fragmentierung der Substanz mit der Masse 248 m/z zeigt dagegen keine Ähnlichkeit mit der Azecin-Struktur und konnte der Verbindung **125** zugeordnet werden. Die gerade Massenzahl ließ die Bildung eines $[M-H]^+$ -Signals vermuten, wie dies beim 1-Phenylisochinolin-Derivat **48** und bei Dibenzo[a,h]chinolizinen beobachtet werden kann (s. Kap. B.10). Das Hauptfragment mit der Masse 146 m/z entspricht dem bei den Azecinen vorkommenden Fragment eines N-Methyl-3,4-dihydroisochinolin-Kations, welches durch Spaltung des Phenylrestes entstanden ist.

Im $^1\text{H-NMR}$ erscheinen bei 6.26 und 6.46 ppm die charakteristischen Signale der Methylen-Gruppe der exozyklischen Doppelbindung als Dubletts, während das Singulett des Methin-Protons zwischen den Aromaten bei 6.50 ppm erscheint. Diese Tieffeldverschiebung des Singuletts ist durch die Aufnahme des Hydrochlorids der Verbindung **125** zu erklären.

Im $^{13}\text{C-DEPT}$ -Spektrum erscheint der Kohlenstoff der Methylen-Gruppe an der exozyklischen Doppelbindung weit im Tieffeld bei 121.75 ppm, während der Kohlenstoff zwischen den Aromaten bei 69.49 ppm liegt.

Die Übereinstimmung der Daten mit den Azecinen **129** und **132** (s. Kap. B.7.2 u. 7.3) bestätigten zusätzlich die obigen Ergebnissen.

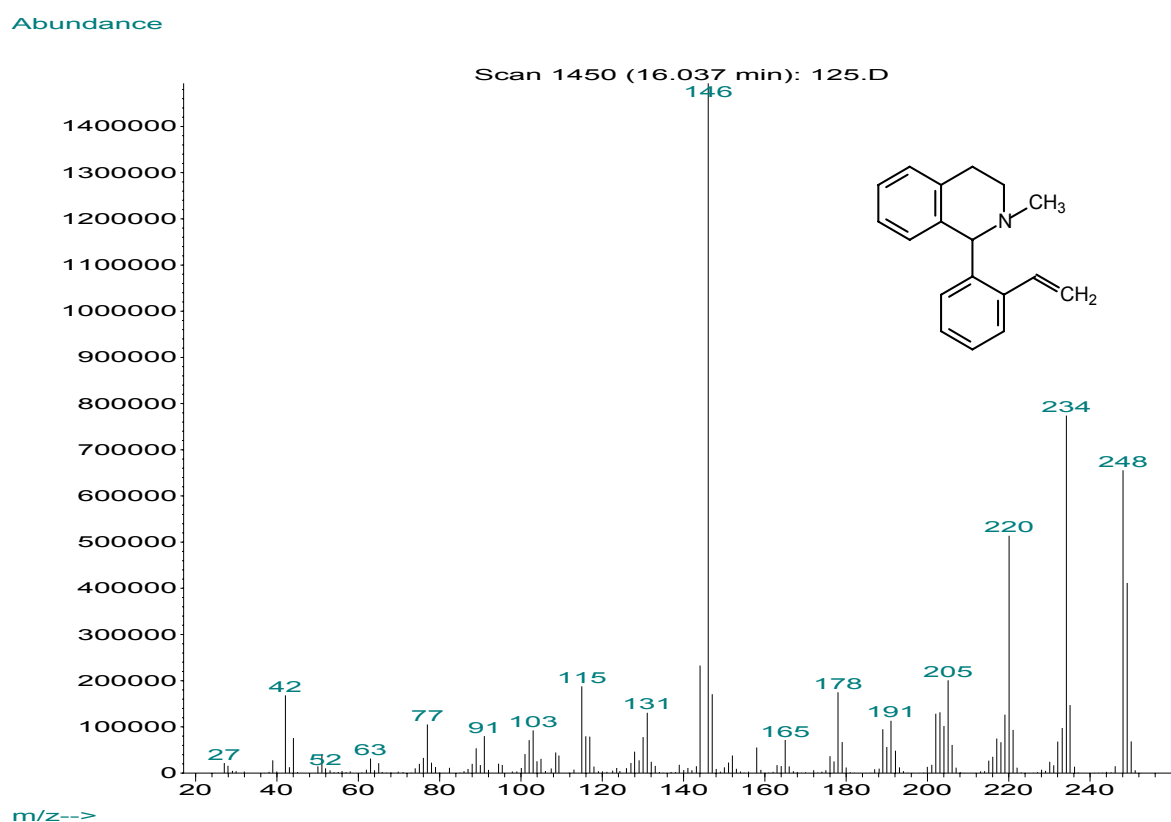


Abb. B.92: Massenspektrum von 2-Methyl-1-(2-vinylphenyl)-1,2,3,4-tetrahydroisochinolinhydrochlorid (**125**)

B.7.2 Synthese von 3-Methoxy-7-methyl-6,7,8,9-tetrahydrodibenz[d,g]azecin-14(5H)-on-Hydrochlorid

Die Synthese des Methoxy-azecinons **129** wurde durchgeführt, wie in Kapitel B.7.1 für das unsubstituierte Azecinon **124** beschrieben. Durch Zugabe kleinster Mengen Natriumhydrid zu einer Lösung des quartären Salzes **58** in DMSO über mehrere Stunden bei Raumtemperatur entstand hauptsächlich das gewünschte Azecinon **129** neben geringen Mengen der „Hofmann-Produkte“ **130** und **131**.

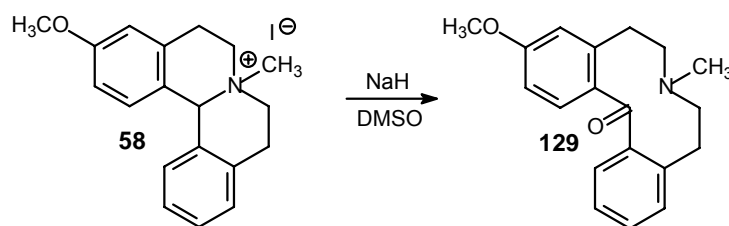


Abb. B.93: Darstellung von 3-Methoxy-7-methyl-6,7,8,9-tetrahydrodibenz[d,g]azecin-14(5H)-on (**129**)

Durch Umkristallisation aus Ether, anschließender Hydrochloridbildung und nochmaligem Umkristallisieren konnten 60% des reinen Azecinons isoliert werden.

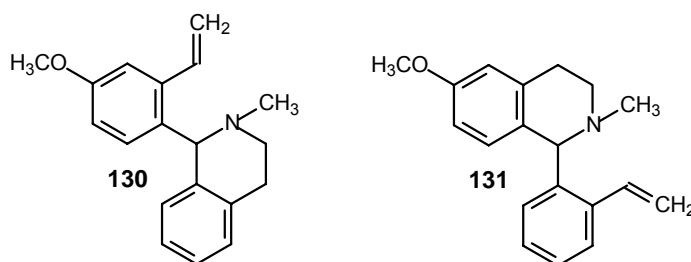


Abb. B.94: Nebenprodukte bei der Synthese von 3-Methoxy-7-methyl-6,7,8,9-tetrahydrodibenz[d,g]azecin-14(5H)-on (**129**)

Die Struktur der beiden Nebenprodukte **130** und **131** konnte durch Vergleich der Massenspektren mit **125** charakterisiert werden. Die Tatsache, dass bei substituierten Chinoliziniumsalzen zwei Nebenprodukte bei der Reaktion mit DMSO und Natriumhydrid entstehen, beweist zusätzlich den oben angegebenen Reaktionsmechanismus einer Hofmann-artigen Eliminierung. Da bei der Hofmann-Eliminierung das Anti-Saytzev-Produkt gebildet wird, d.h. es wird der Wasserstoff eines β -C-Atoms abgespalten, welches die meisten Wasserstoffe gebunden hat, und bei den quartären Salzen der Struktur **58** beide β -C-Atome als Methylen-Gruppen gleichwertig für eine Protoneliminierung zu Verfügung stehen, führt eine Spaltung des Chinoliziniumrings zu den zwei unterschiedlichen Produkten **130** und **131**. Dies geschieht formal auch bei dem unsubstituierten Chinoliziniumsalz **43**, führt dort aber logischerweise zum identischen Produkt **125**.

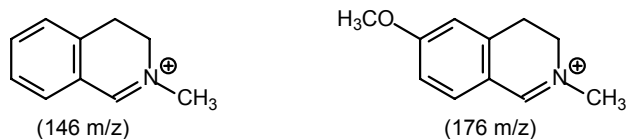


Abb. B.95: Hauptfragmente der „Hofmann-Produkte“ **130** bzw. **131**

Die Massenspektren beider Hofmann-Produkte zeichnen sich durch das gleiche Fragmentierungsmuster aus und bilden als $[M-H]^+$ -Signal die gewünschte Masse von 278 m/z. Unterschiede lassen sich nur im 100%-Peak erkennen, der einmal mit der Masse 146 m/z und einmal mit 176 m/z erscheint. Je nach Eliminierungsprodukt wird als Hauptfragment das Isochinolinium-Kation ohne (**130**) oder mit Methoxy-Substitution (**131**) gebildet.

Abundance

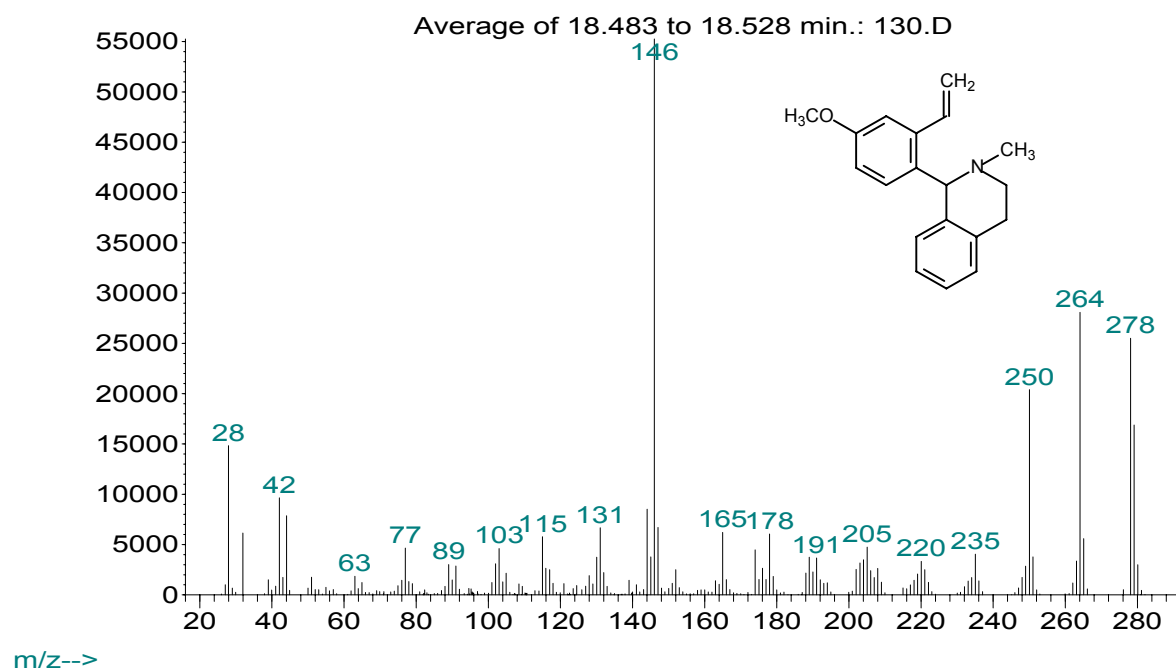
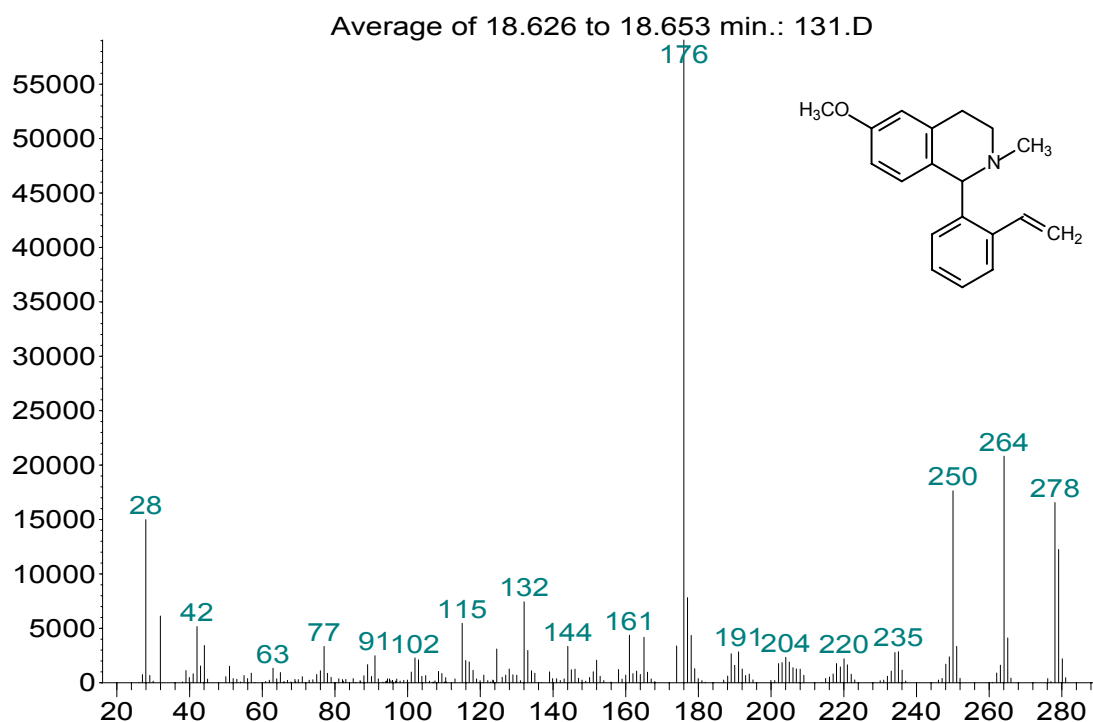


Abb. B.96: Massenspektrum des Nebenprodukts **130**

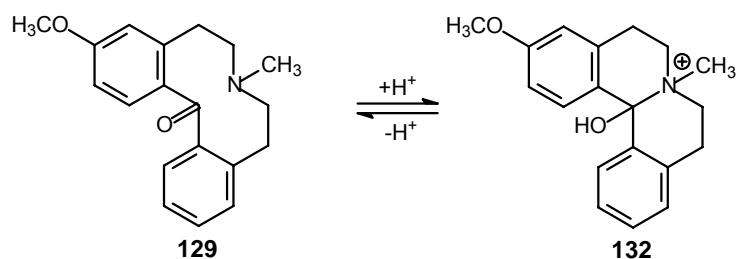
Abundance



m/z-->

Abb. B.97: Massenspektrum des Nebenprodukts 131

Im ^{13}C -NMR-Spektrum der Base **129**, aufgenommen in CDCl_3 , erscheinen im Tieffeld das für Ketone charakteristische Signal bei 191.6 ppm und das methoxylierte C3-Atom bei 161 ppm. Durch Versetzen der deuterierten Lösung mit einigen Tropfen deuterierter Trifluoressigsäure und nochmaliger Aufnahme eines ^{13}C -NMR-Spektrums verschwindet das Signal des Carbonylkohlenstoffs und es erscheint bei 94.7 ppm ein neues Signal. Das Signal des C3-Atoms liegt nach wie vor bei 161 ppm, während die anderen Signale leicht verschoben werden (s. Abb. B.99).

Abb. B.98: Transannulare Reaktion von **129** im saurem Milieu

Der Grund liegt in einer transannularen Reaktion des Stickstoffs mit der O-protonierten Carbonylfunktion, die zum Carbinolamin **132** führt (s. Abb. B.98). Leonard *et al.* [Leonard, 1955] beobachtete diese Reaktion bei einigen zyklischen Aminoketonen, während Kirby *et al.* [Kirby, 1978] dies auch für die Alkaloide Protopin und Cryptopin beschrieben, die zur Klasse der Dibenz[*c,g*]azecinone gehören. Der Ringschluss wird hier besonders begünstigt, da es sich bei den Azecinen um zehngliedrige Ringsysteme handelt, die sich leicht zu Chinolizin-Derivaten schliessen lassen.

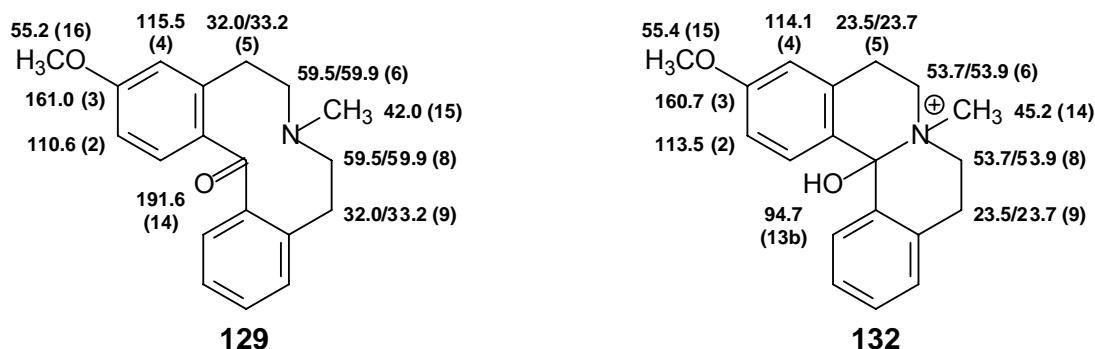


Abb. B.99: ¹³C-NMR-Daten der Verbindungen **129** (CDCl₃) und **132** (CDCl₃/CF₃COOD) im Vergleich

Im ¹H-NMR des Carbinolamins **132** erkennt man deutlich das Fehlen des typischen Singuletts der Azecine bei 4 bis 4.5 ppm, während die Methylen-Gruppen des Azecinrings als nicht aufgelöste Signale bei 3.0-3.3 ppm und 3.6-4.1 ppm liegen. Aufgrund der Methoxy-Substitution des Aromaten erscheinen die Signale der benachbarten Protonen bei 6.65 ppm als Dublett mit einer Kopplungskonstanten von 2.5 Hz und bei 6.76 ppm als Doppeldublett mit Kopplungskonstanten von 2.5 und 8.8 Hz.

Das ¹H-NMR-Spektrum des Azecinons **129** unterscheidet sich hinsichtlich der Aufspaltung nicht wesentlich von der quartären Struktur **132**. Lediglich eine Verschiebung der einzelnen Signale ist zu beobachten, so dass die aromatischen Signale von **129** in Verhältnis zu **132** leicht tieffeldverschoben und die Signale der Methylen-Gruppen des Azecinrings hochfeldverschoben erscheinen.

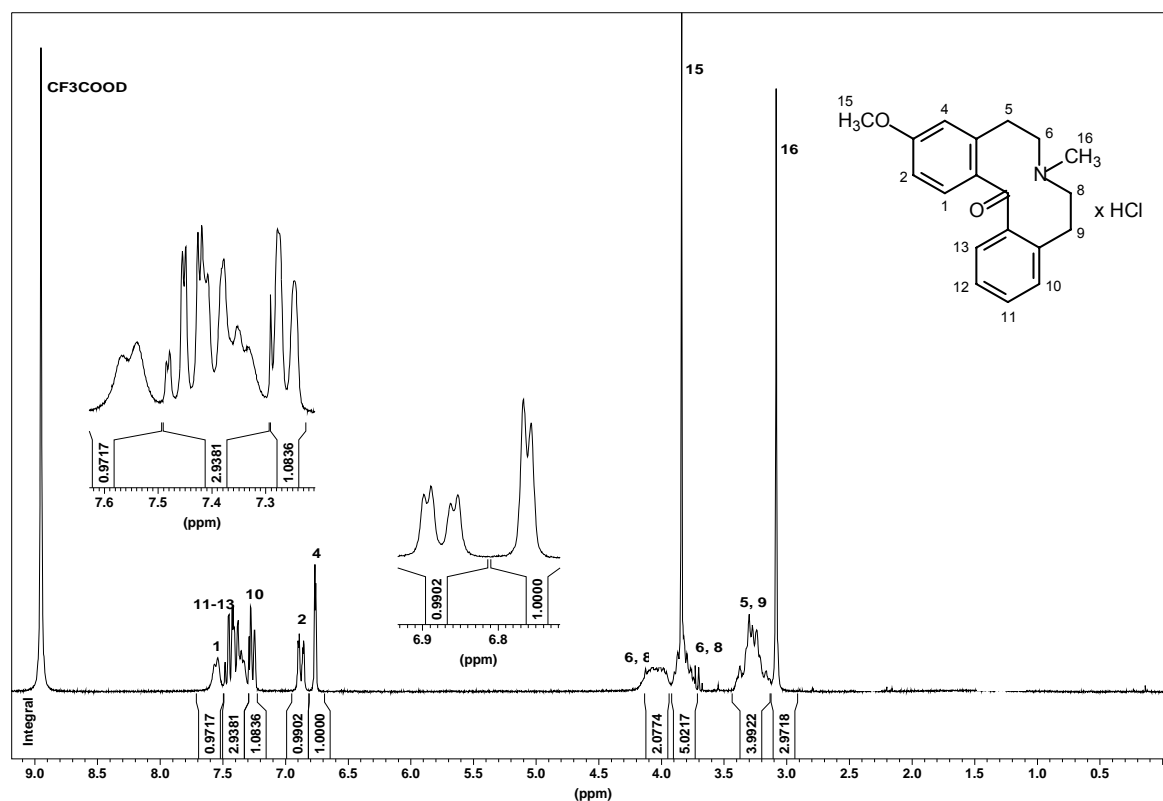


Abb. B.100: ^1H -NMR (CF_3COOD) von 3-Methoxy-7-methyl-6,7,8,9-tetrahydrodibenz[d,g]azecin-14(5H)-on (**129**)

B.7.3 Synthese von 3-Chloro-2-methoxy-7-methyl-6,7,8,9-tetrahydrodibenz[d,g]azecin-14(5H)-on

Mit Natriumhydrid in DMSO gelang ebenfalls die Darstellung des Azecinons **104** aus **88** als kristalliner Feststoff.

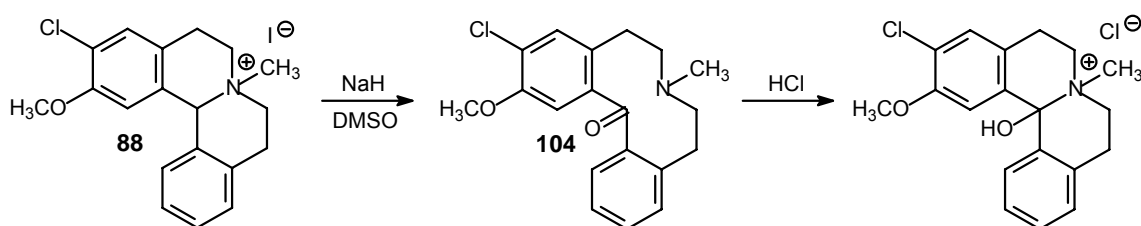


Abb. B.101: Darstellung von 3-Chloro-2-methoxy-7-methyl-6,7,8,9-tetrahydrodibenz[d,g]azecin-14(5H)-on (**104**)

Im GC/MS des Rohproduktes wurden zwei Nebenprodukte mit der Masse 312 m/z detektiert, die als die durch Hofmann-Eliminierung entstandenen Produkte **134** und **135** identifiziert werden konnten.

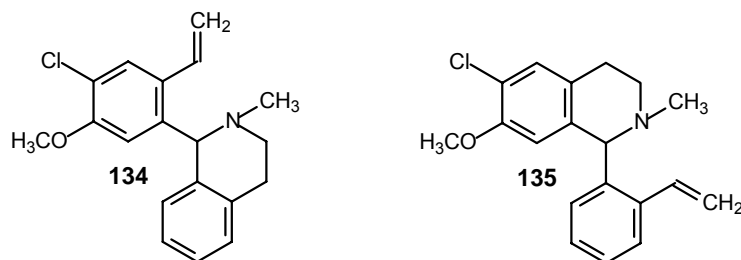


Abb. B.102: Nebenprodukte bei der Synthese von 3-Chloro-2-methoxy-7-methyl-6,7,8,9-tetrahydrodibenz-[d,g]azecin-14(5H)-on (**104**)

Neben dem $[M-H]^+$ -Signal von 312 m/z und dem typischen Fragmentierungsmuster dieser Substanzklasse erkennt man wieder die unterschiedlichen 100%-Peaks beider Produkte, so dass das Signal der Masse 146 m/z der Verbindung **135** zuzuordnen ist, während **134** im Massenspektrum das Fragment mit der Masse 210 m/z erzeugt (s. B.7.2). Dieses Isochinolinium-Fragment besitzt neben der Methoxy- auch eine Chlor-Substitution, was auch deutlich durch das Isotopenverhältnis des Chlors von 3:1 (^{35}Cl : ^{37}Cl) zu erkennen ist (s. Kap. B.10).

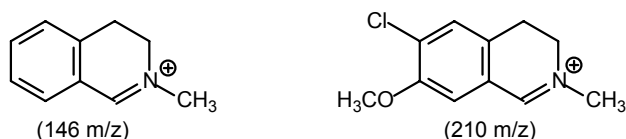


Abb. B.103: Hauptfragmente der „Hofmann-Produkte“ **134** bzw. **135**

Das Azecinin **104** konnte sowohl durch GC/MS-Analytik aufgrund des Molpeaks von 329 m/z und der typischen Fragmente (s. Kap. B.7.1 u. 7.2), als auch ^1H -NMR-spektroskopisch identifiziert werden. Da im ^1H -NMR das Hydrochlorid vermessen wurde, beobachtet man die oben schon erwähnte transannuläre Reaktion zur Carbinolamin-Struktur. Hier zeigt sich vor allem wieder das Fehlen von Signalen zwischen 4 und 7 ppm. Das Signal des Protons in Nachbarschaft zur Methoxy-Gruppe erscheint bei 7.16 ppm im Hochfeld, während die restlichen aromatischen Signale zu einem Multiplett zusammenfallen.

Im ^{13}C -NMR-Spektrum erkennt man wieder bei 98.7 ppm das Signal des C-Atoms der Carbinolamin-Struktur.

B.7.4 Reduktionsversuche zur Herstellung von 3-Chloro-2-methoxy-7-methyl-5,6,7,8,9,14-hexahydrodibenz[d,g]azecin

Wie in Kapitel B.4.4 bereits erläutert, gelang die Darstellung des Azecins **101** nicht. Es wurde nun versucht, das Azecinon **104** zu **101** zu reduzieren. Da die Reduktion von Benzophenonen in der Regel mit Lithiumaluminiumhydrid und Aluminiumchlorid gelingt, wurde **104** in trockenem THF bei 70°C mit diesen Reagenzien gerührt. Nach 100 Stunden konnte nur Edukt isoliert werden. Ebenso erfolglos verlief die Hydrierung mit Wasserstoff und Platindioxid als Katalysator bei 3 bar Überdruck und Eisessig als Lösungsmittel. Nach 70 h Hydrierdauer wurde der Versuch aufgrund zahlreicher Nebenprodukte, eventuell durch Reduktion des Aromaten entstanden, abgebrochen. Weder das gewünschte Produkt, noch die zum entsprechenden Alkohol reduzierte Verbindung konnten im GC/MS beobachtet werden.

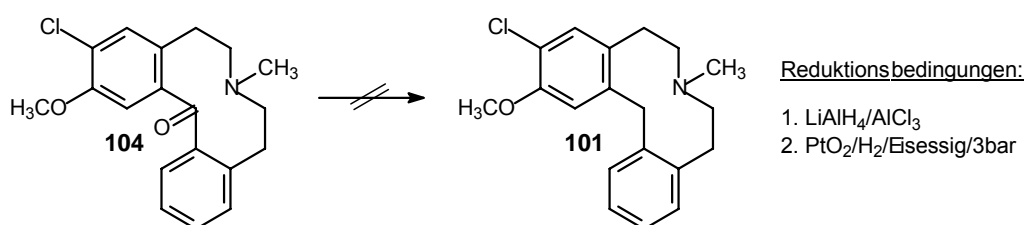


Abb. B.104: Reduktionsversuche zur Darstellung von 3-Chloro-2-methoxy-7-methyl-5,6,7,8,9,14-hexahydrodibenz[d,g]azecin (**101**)

Ebenso misslang die Hydrierung von **129** mit Wasserstoff/Platindioxid bei Normaldruck in Methanol. Nach 100 Stunden konnte auch hier lediglich Edukt isoliert werden.

Aufgrund der im sauren Milieu erfolgenden Carbinolamin-Bildung (s. Kap. B.7.2) sollte untersucht werden, ob diese der Grund der schweren Reduzierbarkeit darstellte. Nach Lansbury [Lansbury, 1961] wurde **129** in Pyridin als basisches Medium gelöst, mit Lithiumaluminiumhydrid versetzt und 50 h gerührt. Auch hier konnte nur Edukt isoliert werden.

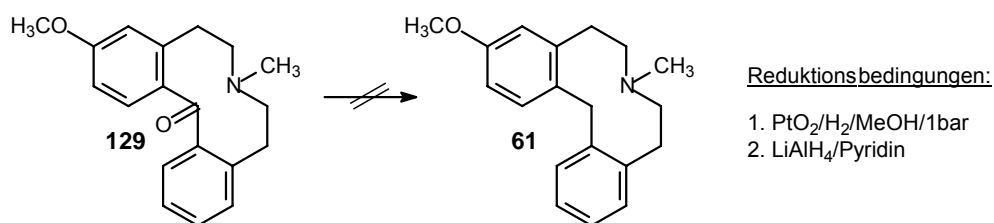


Abb. B.105: Reduktionsversuche zur Darstellung von 3-Methoxy-7-methyl-5,6,7,8,9,14-hexahydrodibenz[d,g]azecin (**61**)

Eine Reduktion der Carbonylfunktion des Azecinons **124** zum Azecin **44** verlief weder in einem Lithiumaluminiumhydrid/Aluminiumchlorid-Gemisch, noch in einem Natriumborhydrid/Aluminiumchlorid-Gemisch erfolgreich. Als Lösungsmittel wurde wieder trockenes THF verwendet und bei 70°C mehrere Stunden gerührt. Durch GC/MS-Analytik konnte nur Edukt identifiziert werden.

Um den Einfluss der Carbinolamin-Struktur während der Reaktion definitiv auszuschließen wurde **124** in Toluol gelöst und mit Benzylbromid bei 70°C quarternisiert. Das quartäre Salz **136** konnte in 74%iger Ausbeute dargestellt und durch $^1\text{H-NMR}$ -Spektroskopie eindeutig identifiziert werden. Charakteristisch erscheint neben den 13 aromatischen Signalen zwischen 7.4 und 7.7 ppm das Signal der Methylen-Gruppe der Benzylseitenkette bei 4.56 ppm als Singulett. Dieses quartäre Salz sollte mit Lithiumaluminiumhydrid und Aluminiumchlorid in trockenem THF reduziert und anschließend die „Schutzgruppe“ entfernt werden. Leider konnte auch hier kein Produkt isoliert werden, so dass wahrscheinlich nur sterische Effekte die geringe Reaktivität der Carbonyl-Gruppe verursachten.

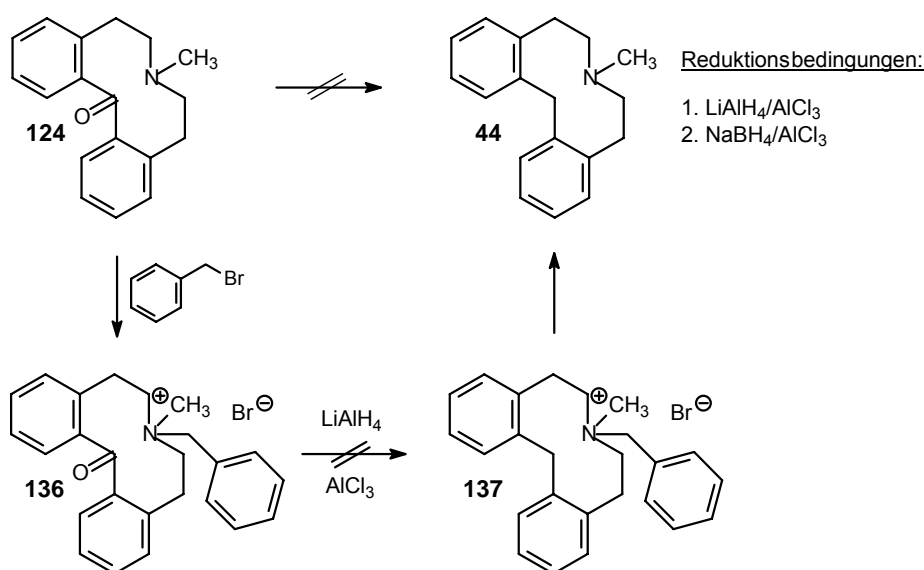


Abb. B.106: Reduktionsversuche zur Darstellung von 7-Methyl-5,6,7,8,9,14-hexahydrodibenz[d,g]azecin (**44**)

B.8 Synthese von N-substituierten 1,2,3,4-Tetrahydroisochinolin

B.8.1 Synthese 2-[2-(3-Methoxyphenyl)ethyl]-1,2,3,4-tetrahydroisochinolin-Hydrochlorid

Durch die Synthese verschiedener N-substituierter Tetrahydroisochinoline sollte geprüft werden, ob die moderate Rigidität der Dibenz[d,g]azecine essentiell für deren antagonistische Aktivität am Dopaminrezeptor ist, oder ob nicht auch andere Teilstrukturen eines Azecins ähnliche Effekte erzielen.

Wie bei Witt [Witt, 1994] und Lankow [Lankow, 2001] beschrieben, wurde das Benz[d]indolo[2,3-g]azecin **LE 300** nicht über ein Hydroxyethylbenzamid, sondern über das

entsprechende Lactam zum Benzindolochinolizin zyklisiert. Dies gelang aufgrund der hohen Aktivität des Indolrings.

Unter gleichen Bedingungen wurde das Phenylethylamin **55** mit Isochromanon **54** in einem offenen Kolben bei 200°C 2 h lang erhitzt und das entstandene schwarze Öl nach Extraktion säulenchromatographisch gereinigt. In nur 15%iger Ausbeute konnte ein farbloses Öl (**138**) isoliert werden, welches im GC/MS die gewünschte Molekülmasse von 281 m/z und das typische Fragmentierungsmuster solcher Lactame ergab (s. Kap. B.10). Ebenso konnte durch ¹H-NMR-Spektroskopie die Struktur **138** bestätigt werden. Die Reduktion des Lactams **138** mit LiAlH₄ in trockenem THF führte zum N-Phenylethyltetrahydroisochinolin **139**.

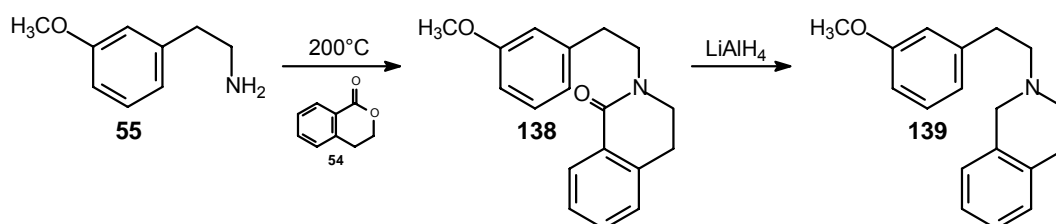


Abb. B.107: Darstellung von 2-[2-(3-Methoxyphenyl)ethyl]-1,2,3,4-tetrahydroisochinolin (**139**)

Charakteristisch erscheint im ¹H-NMR von **139**-Hydrochlorid bei 4.52 ppm das Signal der Methylen-Gruppe des Isochinolinrings zwischen Stickstoff und Aromat.

B.8.2 Synthese von 2-[2-(3-Chloro-4-methoxyphenyl)ethyl]-1,2,3,4-tetrahydroisochinolin-Hydrochlorid

Mika [Mika, 1989] konnte zeigen, wie in Kapitel B.4.1 bereits erläutert, dass bei der Zyklisierung von Hydroxyethylbenzamidinen mit Phosphorylchlorid je nach Reaktionsbedingungen Imidlactone gebildet werden, die weiter zu N-Phenylethyl-lactamen reagieren. Dies geschieht dann, wenn die für den Bischler-Napieralski-Ringschluss bevorzugte Position am Aromaten nicht aktiviert ist. Um trotzdem zu Dibenzochinolizinen zu gelangen, musste der Alkohol der Hydroxyethylseitenkette durch Einführung einer Schutzgruppe blockiert werden.

85 wurde ohne Schützen des Alkohols mit Phosphorylchlorid bei 160°C, unter gleichen Bedingungen wie in Kapitel B.4.1 beschrieben, umgesetzt und das Lactam **140** in geringen Ausbeuten erhalten. Mit LiAlH₄ in trockenem THF konnte **140** in das gewünschte Tetrahydroisochinolin **141** überführt werden. Obwohl erst nach der Umsetzung mit Phosphorylchlorid mit Natriumborhydrid reduziert wurde, konnte nur Lactam **140** isoliert werden. Dies lässt sich nur dadurch erklären, dass schon vor der Reduktion das Lactam entstanden sein muss, da Lactame von Natriumborhydrid nicht reduziert werden. Eine Zwischenstufe, wie das Imidlacton, würde unter genannten Bedingungen reduziert werden.

Durch GC/MS-Chromatographie konnten beide Strukturen aufgrund ihres Massepeaks und dem charakteristischen Fragmentierungsmuster identifiziert werden. Das $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum von **141** zeigt wieder das typische Signal der Methylen-Gruppe zwischen Stickstoff und Aromat bei 4.54 ppm, während im $^1\text{H-NMR}$ des Lactams **140** aufgrund der Amidstruktur dieses Signal fehlt.

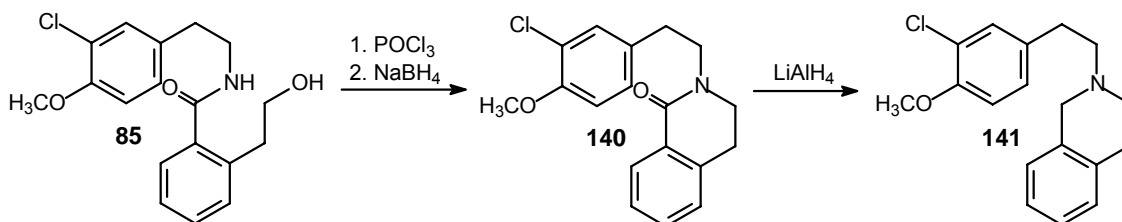


Abb. B.108: Darstellung von 2-[2-(3-Chloro-4-methoxyphenyl)ethyl]-1,2,3,4-tetrahydroisochinolin (**141**)

B.9 Synthesewege zur Herstellung von Dibenz[*d,g*]azecinen im Vergleich

Um Dibenz[*d,g*]azecine herstellen zu können, standen eine Vielzahl an Synthesemöglichkeiten zur Verfügung, die je nach Substitutionsmuster der Azecine einige Vor- aber auch Nachteile aufwiesen. Im Folgenden soll eine Übersicht erstellt werden, in dem die Methoden der einzelnen Reaktionswege und deren Besonderheiten hervorgehoben werden. Vorgestellt werden dabei die Syntheseverfahren zur Herstellung von Dibenzo[*a,h*]chinolizinen und die verschiedenen Spaltungsmöglichkeiten der benzyllischen C-N-Bindung, um Dibenz[*d,g*]azecine zu erhalten.

B.9.1 Synthesewege zu Herstellung von Dibenzo[*a,h*]chinolizinen

Vlaeminck *et al.* [Vlaeminck, 1981] fasste in einem Übersichtsartikel vier verschiedene Synthesemöglichkeiten zur Herstellung substituierter Dibenzo[*a,h*]chinolizine zusammen, die hier wie folgt bezeichnet werden:

- a) Hydroxybenzamidweg
- b) Isochinoliniumweg
- c) Lactamweg
- d) Aldoximweg

Die besten Ausbeuten konnten über den von Meise *et al.* [Meise, 1976] beschriebenen Hydroxybenzamidweg erreicht werden, der in dieser Arbeit bei der Herstellung substituierter Azecine bevorzugt angewandt wurde und hier am Beispiel des 3-Methoxy-dibenz[*d,g*]azecins **61** näher erläutert wird (s. Abb. B.109). Der zweite von Vlaeminck *et al.* beschriebene Weg

gelang durch Zyklisierung eines substituierten Phenylethylisochinoliniumsalzes und wurde ebenfalls in dieser Arbeit zur Synthese des Azecins **61** herangezogen (s. Abb. B.109).

Wie in Kapitel B.3.1 bereits ausführlich dargestellt, konnte das 3-Methoxybenzo[*a,h*]chinolizin **57** nach Meise *et al.* durch Aminolyse des Phenylethylamins **55** mit Isochromanon **54** und anschließender Zyklisierung des Hydroxybenzamids **56** mit Phosphorylchlorid dargestellt werden. Die Synthese des Isochromanons **54** gelang durch phasentransferkatalytische Oxidation des Isochromans **53** mit Kaliumpermanganat in Gegenwart von TEBA. Die von Meise *et al.* über beide Stufen (**56** + **57**) erzielte Ausbeute von 40% konnte hier nicht erreicht werden (26%).

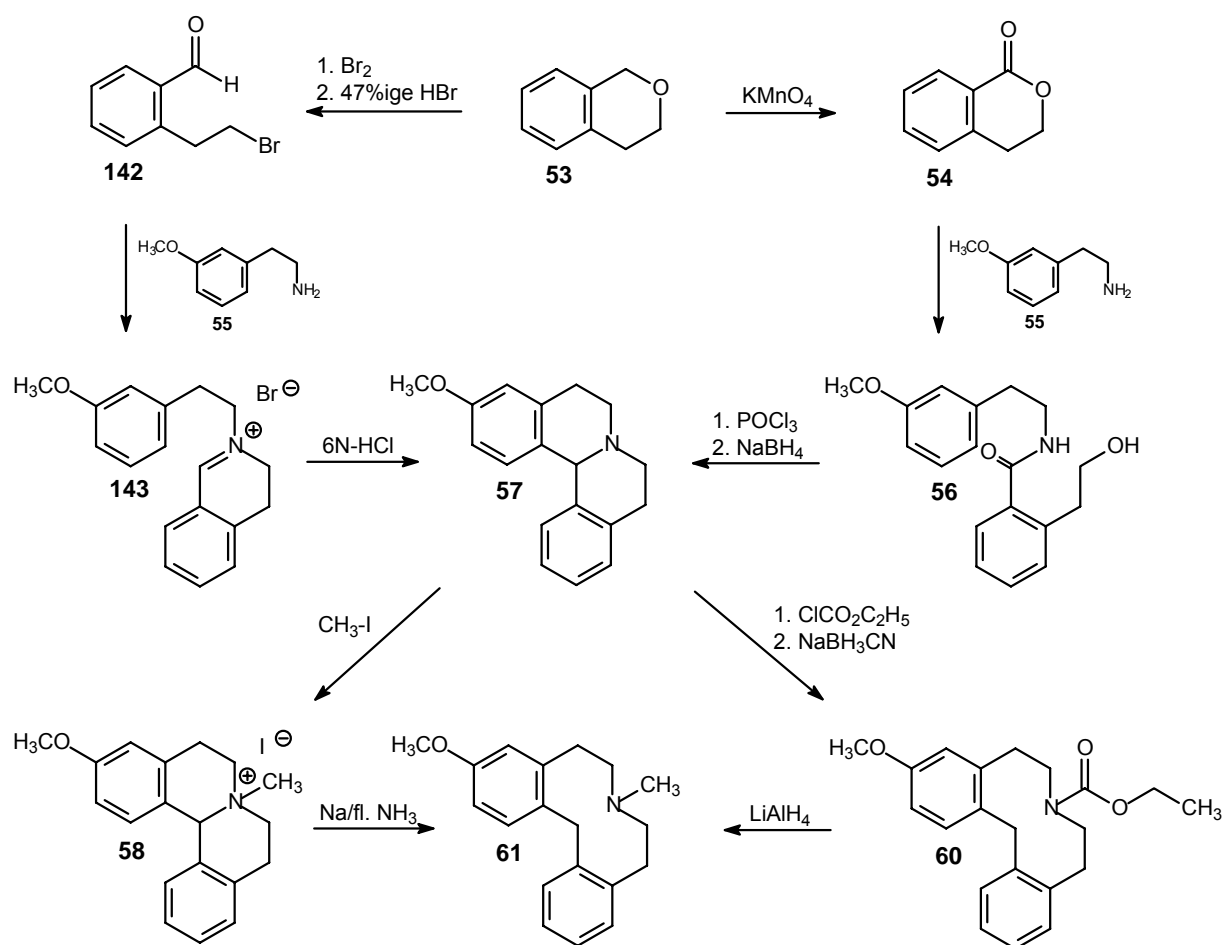


Abb. B.109: Verschiedene Synthesewege zur Darstellung von 3-Methoxy-7-methyl-5,6,7,8,9,14-hexahydrodibenz[*d,g*]azecin (**61**)

Als Alternativmethode, wie oben bereits erwähnt, wurde versucht, das Chinolizin **57** über den Isochinoliniumweg darzustellen. Dies gelang durch Ringöffnung und Oxidation des Isochromans **53** mit Brom und 47%iger HBr-Lösung in 57%iger Ausbeute zum Benzaldehyd **142**, welches im $^1\text{H-NMR}$ das typische Singulett des Aldehydprotons bei 10.1 ppm bildet. Durch tropfenweise Zugabe des Phenylethylamins **55** zu dem in Dioxan gelösten Benzaldehyd **142** konnte das Phenylethylisochinolinium-Derivat **143** dargestellt werden,

welches ebenfalls durch ^1H -NMR-Spektroskopie identifiziert werden konnte. Charakteristisch erscheint hier das Signal des Protons der $\text{CH}=\text{N}$ -Gruppe im Tieffeld bei 9.21 ppm. Die Zyklisierung von **143** zum Chinolizin **57** gelang nach Vlaeminck *et al.* durch 6stündiges Erhitzen auf 100°C in 6N-HCl-Lösung. Nach Alkalisierung und Extraktion konnte die Struktur von **57** durch GC/MS-Chromatographie nachgewiesen werden. Allerdings gelang es nicht, eine reine Substanz zu isolieren, so dass das Rohprodukt direkt durch Methyljodid zum Chinoliziniumsalz **58** quaternisiert wurde. Durch Vergleich der ^1H -NMR-Spektren des über beide Wege erhaltenen Salzes **58**, konnte die Verbindung eindeutig identifiziert werden.

Vergleicht man beide Wege hinsichtlich des zeitlichen und apparativen Aufwands, lassen sich keine nennenswerten Unterschiede feststellen. Jedoch wurde aufgrund der Ausbeuten der Hydroxybenzamidweg bei den Synthesen weiterer Azecine bevorzugt verwandt. Ausgehend vom Isochroman **53** betrugen die Ausbeuten bis zur Bildung des quartären Salzes **58** für den Benzamidweg 11%, während der Isochinoliniumweg nur 5% erreichte.

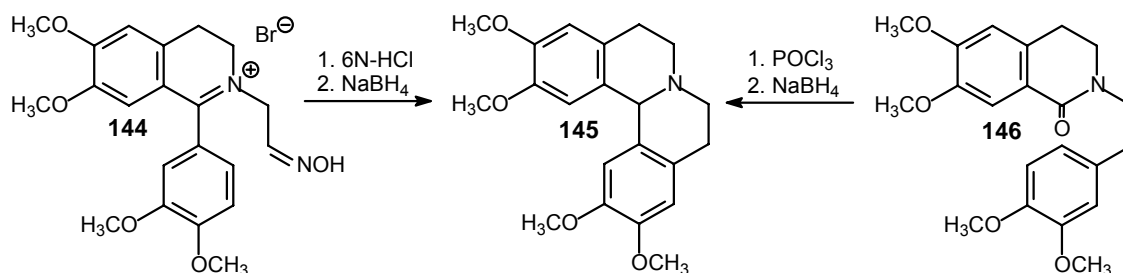


Abb. B.110: Synthesewege zur Darstellung substituierter Dibenz[d,g]azecine nach Vlaeminck

Die zwei weiteren von Vlaeminck *et al.* beschriebenen Wege werden in Abb. B.110 dargestellt. Hier zeigte sich, das Lactame wie **146** auf gleiche Weise wie die Benzamide (z.B. **56**) mit Phosphorylchlorid und anschließender Reduktion mit Natriumborhydrid zum Chinolizin **145** zyklisiert werden können. Diese Zyklisierung wurde von Brown *et al.* [Brown, 1970] erstmals veröffentlicht. Mit Ausbeuten von 34% wäre dies eine Alternative, da aber die Bildung des Lactams **138**, wie im vorigem Kapitel B.8.1 erläutert, nur mit 15%iger Umsetzung erfolgt, war auch diese Methode dem Benzamidweg unterlegen. Ein weiterer Nachteil dieser Methode bestand in der eingeschränkten Wahl des Substitutionsmusters der entstehenden Chinolizine. Konnte durch Einführung einer Schutzgruppe an die Hydroxyethylseitenkette nicht aktivierter Benzamide wie z.B. **85** (s. Kap. B.4.1) ein Bischler-Napieralski-Ringschluss durchgeführt werden, gelang dies bei der Zyklisierung von Lactam-Derivaten nicht oder nur in sehr niedrigen Ausbeuten. Eine Aktivierung der Ringschluss-Position durch para-ständige Substituenten wie Hydroxy- oder Methoxy-Gruppen war zwingend notwendig. Versuche der Zyklisierung des N-Phenylethyl-lactams **140** (s. Kap. B.8) mit Phosphorylchlorid durch 6stündiges Erhitzen auf 160°C zeigten in der GC/MS-Analytik keine nennenswerten Umsetzungen zum entsprechenden Chinolizin **87** (ca. 1-2%).

Die Zyklisierung über ein Aldoxim **144** in 6N-HCl und anschließender Reduktion mit Natriumborhydrid gelang Bishop *et al.* [Bishop, 1970] in 25%iger Ausbeute. Dieser Weg wurde im Rahmen dieser Arbeit praktisch nicht nachvollzogen, da allein die Herstellung eines Aldoxims u.a. über entsprechende Acetale [Kimber, 1963] sehr aufwendig erschien und so über mehrere Stufen keine moderaten Umsetzungen zu erwarten waren. Ebenso würde eine Zyklisierung unter oben genannten Bedingungen nur durch einen in para-Position zur Ringschlussstelle aktivierenden Substituenten gelingen, so dass auch hier nur Chinolizine mit eingeschränktem Substitutionsmuster dargestellt werden könnten.

Zusammenfassend kann gesagt werden, dass eine Synthese von substituierten Dibenzo[*a,h*]chinolizinen hinsichtlich des technischen Aufwands und der Ausbeuten am sinnvollsten über den Hydroxybenzamidweg realisierbar ist. Auch die Synthese von Chinolizinen, die an beiden Aromaten substituiert sind, gelang durch substituierte Isochromanone über den Benzamidweg (Kap. B.6).

Um am Aromaten völlig unsubstituierte Dibenzo[*a,h*]chinolizine synthetisieren zu können, wurde, wie in Kapitel B.2.1 erläutert, der Weg über ein Nitrilium-Ion beschrieben. Dieses wurde aus Benzonitril und Phenylethylchlorid mit Zinn(IV)chlorid dargestellt und zyklisierte zum 1-Phenylisochinolin-Derivat **23**, welches durch Quarternisierung mit 2-Bromethanol und anschließender Reduktion mit Natriumborhydrid zum Tetrahydroisochinolin **25** umgesetzt werden konnte. **25** zyklisierte in Gegenwart von Polyphosphorsäure zum Chinolizin **26** in 42%iger Ausbeute. Dies schien der effektivste Weg zur Darstellung von unsubstituierten Dibenzo[*a,h*]chinolizinen zu sein, da alle oben erwähnten Reaktionswege keine Umsetzung ergaben. Lediglich Mika [Schlüter, 1987] gelang in 12%iger Umsetzung die Darstellung eines unsubstituierten Chinolizin-Derivats über den Hydroxybenzamidweg durch ein geschütztes Benzamid.

Im Folgenden sollte untersucht werden, ob es möglich ist, substituierte Chinolizine über eine Zyklisierung mit Polyphosphorsäure darzustellen. Dazu wurde, wie aus Abb. B.111 ersichtlich, das Phenylethylamin-Derivat **84** nach Charifson *et al.* [Charifson, 1988] mit Benzoylchlorid (**147**) zum Benzamid **148** fast quantitativ umgesetzt. Der Schmelzpunkt von 153°C unterscheidet sich trotz eines eindeutigen und reinem ¹H-NMR und einer korrekten hochauflösenden Masse von dem Literaturwert von 137-140°C. Anschließende Zyklisierung zum Dihydroisochinolin **149** gelang mit einem Phosphorylchlorid/Phosphorpentoxid-Gemisch durch 4stündiges Erhitzen unter Rückfluss. Auch hier konnte das von Charifson *et al.* angegebene rötliche Öl nicht beobachtet werden. Stattdessen entstanden nach Aufarbeitung und Umkristallisation aus Aceton weiße Kristalle mit einem Schmelzpunkt von 97°C, die

durch GC/MS-Chromatographie und ^1H -NMR-Spektroskopie als **149** identifiziert werden konnten. Quarternisierung von **149** mit 2-Bromethanol in trockenem Toluol führte in 83%iger Ausbeute zum quartären Salz **150**, welches mit Natriumborhydrid zum öligen Tetrahydroisochinolin-Derivat **151** reduziert wurde. Im ^1H -NMR von **151** erscheint bei 4.54 ppm das charakteristische Signal des Methin-Protons zwischen den Aromaten. Als letzter Schritt sollte **151**, analog dem unsubstituierten Tetrahydroisochinolin-Derivat **25**, durch 6ständiges Erhitzen bei 160°C mit Polyphosphorsäure unter gleichzeitiger Etherspaltung der Methoxy-Gruppe [Minor, 1994] zum Dibenzo[*a,h*]chinolizin **152** zyklisiert werden. Durch GC/MS-Chromatographie konnten aber weder das gewünschte Produkt **152**, noch das Edukt **151** detektiert werden. Es entstanden dagegen eine Vielzahl an Verbindungen, die nicht identifiziert werden konnten, aber weder durch die Masse, noch durch das typische Fragmentierungsmuster die Bildung eines Dibenzo[*a,h*]chinolizins vermuten liessen.

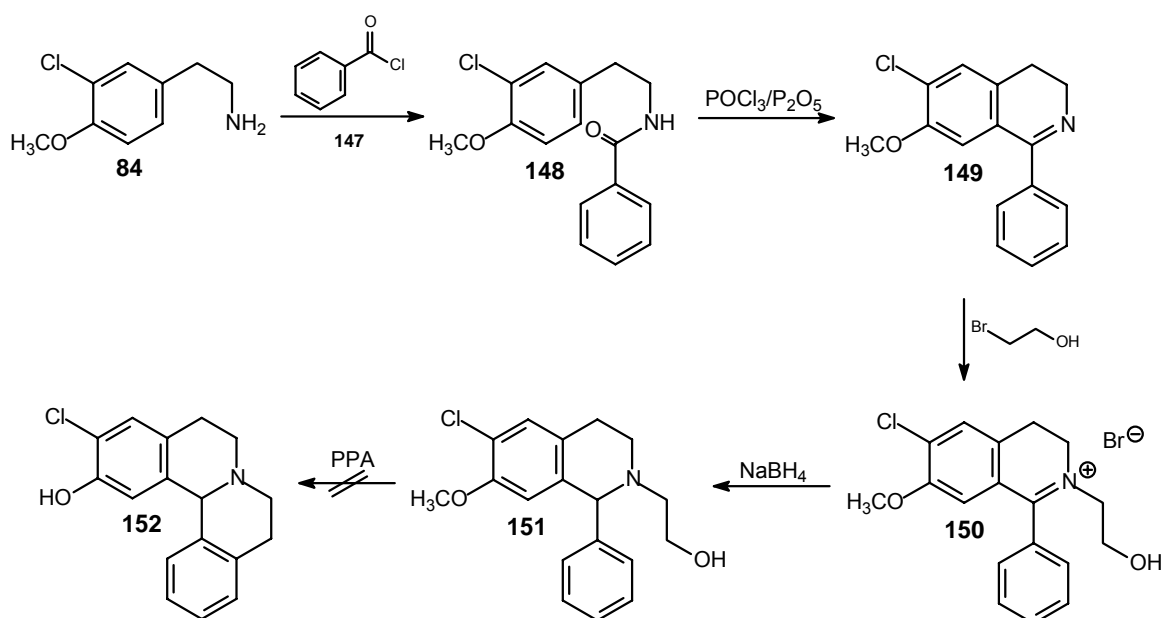


Abb. B.111: Syntheserversuch zur Darstellung von 3-Chloro-2-hydroxy-5,6,8,9-tetrahydro-13bH-dibenzo[*a,h*]chinolizin (**152**)

So blieb der von Meise *et al.* beschriebene Hydroxybenzamidweg zur Herstellung substituierter Dibenzo[*a,h*]chinolizine Mittel der Wahl, während unsubstituierte Chinolizine am effektivsten durch Polyphosphorsäure-Zyklisierung dargestellt werden konnten.

B.9.2 Spaltungsmöglichkeiten der benzylichen Bindung zur Herstellung von Dibenz[d,g]azecinen

Bislang wurde im Arbeitskreis die benzyliche C-N-Bindung stets mit Natrium in flüssigem Ammoniak gespalten. Die Azecine konnten, je nach Substitutionsmuster, in moderaten bis guten Ausbeuten erhalten werden. Durch Einführung neuer Substituenten am Aromaten und der Darstellung von „NH-Azecinen“ wie z.B. **75** musste über alternative Spaltungsmethoden nachgedacht werden. Essentiell war dies bei der Synthese von chlorierten Dibenz[d,g]azecinen, da aromatisch gebundenes Chlor unter Birch-Bedingungen abgespalten wird. Der Erhalt anderer funktioneller Gruppen, wie z.B. die Nitro-Gruppe im Chinoliziniumsalz **72**, die unter Birch-Bedingungen zum Anilin-Derivat **73** reduziert wird, kann ebenfalls nur durch alternative Verfahren realisiert werden.

Ein alternatives Verfahren wurde in der katalytischen Hydrierung mit Wasserstoff und Platindioxid als Katalysator gefunden, die Emde und Kull [Emde, 1936] bei Spaltungen benzylicher Bindungen quartärer Isochinoliniumsalze anwendeten. Durch Lösen des quartären Salzes **58** in Ethanol unter Zufuhr von Wasserstoff durch einen an das Reaktionsgefäß angeschlossenen Gasballon gelang es, nach 70stündigem Rühren bei Raumtemperatur und Normaldruck 16% des Hydroxy-azecins **62** zu isolieren.

Vergleicht man dies mit den unter Birch-Bedingungen erhaltenen 68% am Azecin **62**, so scheint die katalytische Hydrierung keine gute Alternative darzustellen.

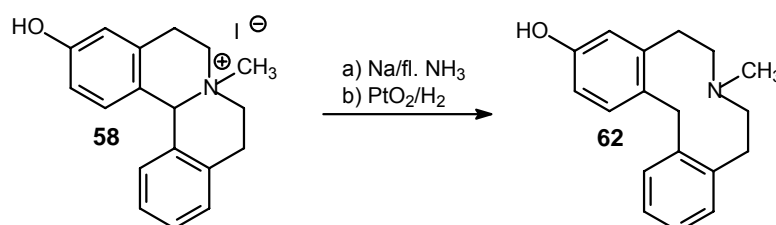


Abb. B.112: Darstellung von 3-Hydroxy-7-methyl-5,6,7,8,9,14-hexahydrodibenz[d,g]azecin (**62**) durch Hydrierung

Andererseits konnten durch dieses Hydrierverfahren möglicherweise chlorierte, quartäre Salze wie z.B. **154** ohne Verlust des Chloratoms zu Azecinen gespalten werden.

Durch Chlorierung des Chinolizins **70** (Synthese s. Kap. B.3.1 bzw. B.3.2) mit Sulfurylchlorid in Eisessig wurde **153** erhalten. Die Chlorierung erfolgte dabei selektiv in 4-Position (s. auch Kap. B.3.3), anschließende Quarternisierung von **153** mit Methyljodid bei 50°C führte zum quartären Salz **154**. Die Spaltung der C-N-Bindung in **154** gelang mit Wasserstoff in Gegenwart von Platindioxid bei Normaldruck in Ethanol durch 50stündige Umsetzung. GC/MS-chromatographisch konnte das Azecin **68** identifiziert werden, da es in Masse, Fragmentierungsmuster und Retentionszeit mit dem durch Chlorierung des Azecins **62**

hergestellten **68** (s. Kap. B.3.3) übereinstimmte. Die Ausbeuten der auf beiden Wegen erhaltenen Substanz **68** lagen dabei in der gleichen Größenordnung (12% bzw. 17%). Eine längere Hydrierung führte vermehrt zu dechlorierten Produkten, so dass eine Verbesserung der Ausbeute unter diesen Bedingungen nicht möglich war.

Es war also praktisch möglich, die benzyliche Bindung unter Erhalt eines aromatischen Chlorsubstituenten zu spalten, wobei dies aber abhängig vom Substitutionsmuster erfolgte, wie am Beispiel des 2-Methoxy-3-chloro-dibenz[*d,g*]azecin **101** (s. Kap. B.4.4) gezeigt werden konnte. Hier gelang eine selektive, katalytische Hydrierung nicht.

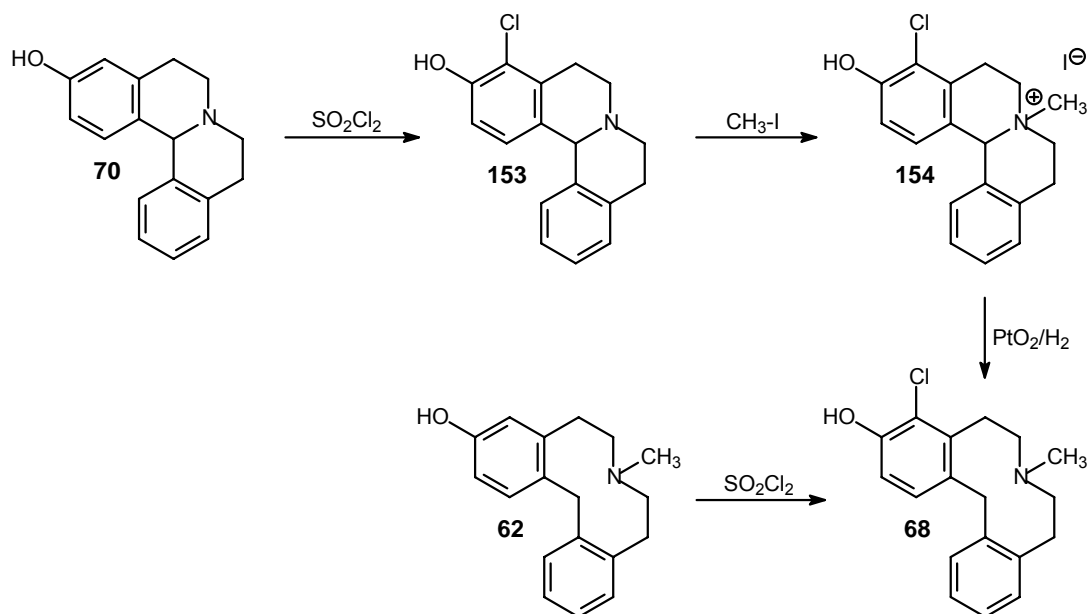


Abb. B.113: Darstellung von 4-Chloro-3-hydroxy-7-methyl-5,6,7,8,9,14-hexahydrodibenz[*d,g*]azecin (**68**) durch Hydrierung

Um nochmals zu prüfen, ob auch andere Katalysatoren als Platindioxid die C-N-Bindung hydrogenolysieren können, wurde **58** bei 2,5 bar Wasserstoffdruck in Gegenwart von Palladium auf Kohle (10%) in Ethanol umgesetzt. Nach 24 h konnte aber nur Edukt isoliert werden. Wie in Kapitel B.4.4 (Abb. B.74) bereits beschrieben, gelang dies ebenso wenig bei dem quartären Salz **88**. Auch dort konnte nur Edukt isoliert werden.

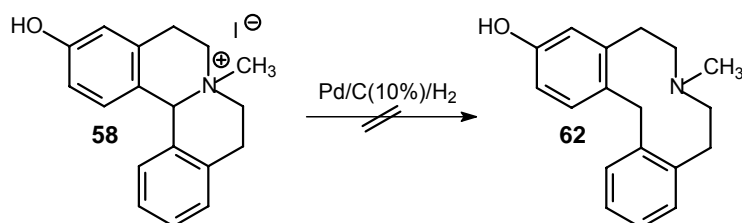


Abb. B.114: Syntheserversuch zur Darstellung von 3-Hydroxy-7-methyl-5,6,7,8,9,14-hexahydrodibenz[*d,g*]azecin (**62**) durch Hydrierung

Als letzte Spaltungsvariante soll die schon in Kapitel B.3.1 und B.3.5 beschriebene Urethan-Methode eingesetzt werden. Diese von Tanaka *et al.* [Tanaka, 1978] angewandte und von Enzensperger [Enzensperger, 2005] modifizierte Methode stellt die wichtigste alternative Variante zur Herstellung von Dibenz[*d,g*]azecin-Derivaten dar, da sowohl die Darstellung von „NH-Verbindungen“ als auch von N-Methyl-Azecinen ermöglicht wurde.

Das Chinolizin **57** wurde in trockenem THF gelöst und bei -76°C mit Chlorameisensäureethylester versetzt. Die Spaltung des intermediär gebildeten quartären Urethans gelang quantitativ *in situ* mit Natriumcyanoborhydrid zum Urethan **60**, dessen Struktur durch GC/MS- und ^1H -NMR-Analytik nachgewiesen werden konnte. Charakteristisch für die geglückte Spaltung erscheint bei 3.94 ppm das Signal der Methylen-Gruppe zwischen den Aromaten, während weit im Hochfeld bei 0.75 ppm das Signal der Methyl-Gruppe des Esters liegt. Reduktion des Urethans **60** mit Lithiumaluminiumhydrid in trockenem THF führte in 55%iger Ausbeute zum Azecin **61**, welches schon unter Birchbedingungen in nur 20%iger Ausbeute dargestellt werden konnte (s. Kap. B.3.1).

Hier zeigt sich der Vorteil des „Urethanweges“ gegenüber der Spaltung durch Birchreduktion, da neben ähnlichem zeitlichen und apparativen Aufwand die Ausbeute deutlich höher liegt.

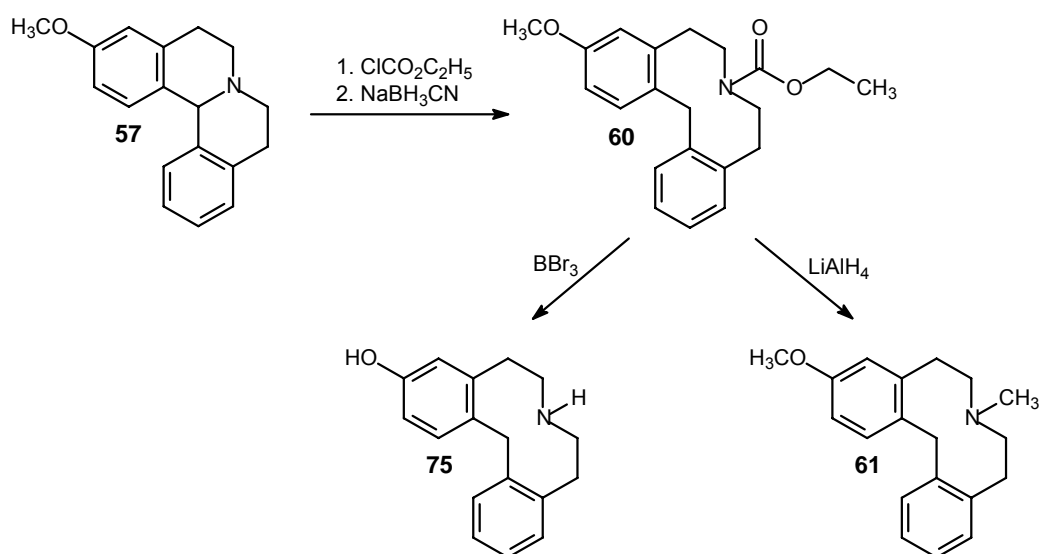


Abb. B.115: Reduktionsmöglichkeiten des Urethans **59** zum NH- und N-Methyl-Azecin **75** bzw. **61**

Durch Umsetzung des in Toluol gelösten **60** mit Bortribromid gelang die Darstellung des NH-Azecins **75** in guten Ausbeuten. Dabei wurde neben der Reduktion des Urethans zum sekundären Amin auch die Methoxy- zur Hydroxy-Gruppe ethergespalten. Durch Vergleich der GC/MS- und ^1H -NMR-Daten des unter gleichen Bedingungen reduzierten Hydroxy-Urethans **76** zur NH-Verbindung **75** konnte die Umsetzung bestätigt werden.

Auch dieser Weg zeigte bessere Ausbeuten gegenüber der Spaltungsmethode über N-Oxide unter Birch-Bedingungen (s. Kap. B.2.2).

Allerdings scheint die Urethanbildung, wie bei der Umsetzung mit Platindioxid, vom Substitutionsmuster abhängig zu sein, da es z.B. nicht gelang, das 2-Methoxy-3-chloro-dibenz[*d,g*]azecin **101** (s. Kap. B.4.4) über diesen Weg darzustellen.

Abschließend kann gesagt werden, dass eine Reihe von Methoden zur Darstellung der Dibenzo[*a,h*]chinolizine und der Dibenz[*d,g*]azecine entwickelt wurden, aber nur der Hydroxybenzamidweg, die Birch-Spaltung und der Urethanweg für ein breiteres Feld unterschiedlicher Chinolizine bzw. Azecine in guten Ausbeuten und mit akzeptablem Aufwand angewandt werden können.

Andere Methoden stellen aber eine wichtige Alternative dar, wenn es z.B. um die Darstellung spezieller, aufgrund ihres Substitutionsmusters schwer zugänglicher Azecine geht.

B.10 Strukturaufklärung einiger wichtiger, bei der Darstellung von Dibenz- [*d,g*]azecinen anfallender Substanzen durch GC/MS-Chromatographie

Der Gaschromatograph kombiniert mit einem Massenspektrometer (GC/MS) erwies sich als ein wirksames Instrument zur Strukturaufklärung der bei der Synthese verschiedener Dibenz[*d,g*]azecine anfallender Substanzen.

Im Folgenden soll kurz auf die Grundlage der hier angewandten GC/MS-Analytik eingegangen und Vor- und Nachteile dieser Methode herausgestellt werden. Des Weiteren werden typische Fragmentierungsmuster einiger wichtiger Substanzen, wie Dibenz[*d,g*]azecine, Dibenzo[*a,h*]chinolizine, Lactam-Derivate u.ä. vorgestellt.

B.10.1 Grundlagen

Die hier angewandte Gaschromatographie beruht auf den Grundlagen der Verteilungschromatographie, bei der eine gasförmige Substanz bzw. ein Substanzgemisch durch Wechselwirkung mit der stationären Phase und der mobilen Phase aufgetrennt wird.

Als stationäre Phase wurde eine mit (5%-Phenyl)-methylpolysiloxan beschichtete, unpolare Kapillarsäule (HP-5ms) verwendet, die sich auch gegenüber aktiven Substanzen als recht inert erwies, während als mobile Phase das Trägergas Helium eingesetzt wurde.

Die Vorteile dieser Methodik liegen hauptsächlich in dem sehr geringen Substanzbedarf, den guten Trenneigenschaften und der schnellen Überprüfung hinsichtlich Reinheit bzw. Umsetzungsgrad der jeweiligen Reaktion und der Identifikation der zu untersuchenden Substanz. Limitiert wurde dieses Verfahren durch die Verdampfbarkeit der Substanzen, so dass Verbindungen, die im Injektor bei 250°C nicht in den gasförmigen Zustand überführt werden konnten, nicht auswertbar waren. Ebenso konnten geladene bzw. sehr polare oder bei hohen Temperaturen zersetzbare Substanzen nicht analysiert werden [Rücker, 2001].

Hierzu zählten vor allem die quartären Dibenzo[*a,h*]chinoliziumsalze und die Hydroxybenzamid-Derivate.

Durch Derivatisierung eventuell vorhandener funktioneller Gruppen, wie z.B. Veresterung oder Veretherung, könnten thermolabile oder schwer verdampfbare Substanzen durch GC/MS-Analytik zugänglich gemacht werden. Dies war aber mit den in dieser Arbeit vermessenen Substanzen aufgrund ihrer Struktur nicht möglich.

Bei dem hier angewandten Massenspektrometer handelt es sich um einen Elektronenstoß-Ionisations-Detektor (EI), der Moleküle durch Beschuss mit energiereichen Elektronen (ca. 70 eV) ionisiert und so Molekülionen erzeugt. Die von diesen Molekülionen aufgenommene, überschüssige Energie führt dann meist zum Zerfall der Ionen (Fragmentierung). Die Trennung der positiv geladenen Fragmente erfolgt in einem Magnetfeld durch einen Quadrupol-Analysator aufgrund der unterschiedlichen Massen der Bruchstücke (magnetische Fokussierung). So können diese positiv geladenen Fragmente nach steigender Masse registriert werden, was sich im Massenspektrum in einem für die Substanz charakteristischen Fragmentierungsmuster äußert [Hesse, 1995].

Durch Kopplung des Gaschromatographen mit einem Massenspektrometer als Detektor gelang es, besonders aus Gemischen das gewünschte Produkt sofort zu identifizieren, ohne aufwendige Vergleichsspektren aufnehmen zu müssen. Hier konnten selbst im Nanogramm-Bereich noch aussagekräftige Spektren erhalten werden. Eine Steigerung der Nachweisgrenze konnte zusätzlich durch Wahl des „SIM-Modus“ (selected ion monitoring) erreicht werden, bei der nur Ionen mit einem vorher festgelegten Masse/Ladungs-Verhältnis (m/z) durch einen Massenfilter wandern konnten und detektiert wurden. Verunreinigungen bzw. Substanzen mit einem anderen m/z -Verhältnis wurden dagegen nicht detektiert, was zu einer bis zu 100fachen Sensitivitätssteigerung führen kann [Hübschmann, 2001]. Durch die starke Fragmentierung des Elektronenstoß-Ionisations-Verfahrens gelang es, einige typische Fragmente zu identifizieren, die bei allen Verbindungen der jeweiligen Substanzklasse wiederkehrten und so neben dem Molekülpeak maßgeblich zur Strukturaufklärung beitrugen. Der allgemeine Nachteil des EI-Massenspektrometers, dass aufgrund der starken Fragmentierung der Molekülpeak nicht mehr detektiert werden konnte, wurde bei den untersuchten Substanzen nicht beobachtet.

Als Nachteil erwies sich aber der limitierte Massenbereich, da nur Massen mit einem m/z -Verhältnis bis maximal 425 m/z nachgewiesen werden konnten, so dass eine Identifikation der in Kapitel B.2.5 vorgestellten Dimere über diese Methode nicht möglich war.

B.10.2 Fragmentierungsmuster einiger Dibenz[*d,g*]azecine

a) Fragmentierung von 7-Methyl-5,6,7,8,9,14-hexahydrodibenz[*d,g*]azecin (**44**)

Wie weiter oben bereits beschrieben, wurde als Detektor ein Elektronenstoss-Ionisations-Massenspektrometer (EI-MS) verwendet, der sich, aufgrund der hohen eingesetzten Energie, durch eine Fülle von Fragmentierungsreaktionen auszeichnet. Durch Vergleich verschiedener Dibenz[*d,g*]azecin-Massenspektren konnten einige Fragmente mit gleicher Masse und z.T. ähnlicher Intensität bei allen Spektren wiedergefunden werden, die im Folgenden näher erläutert werden sollen.

Abundance

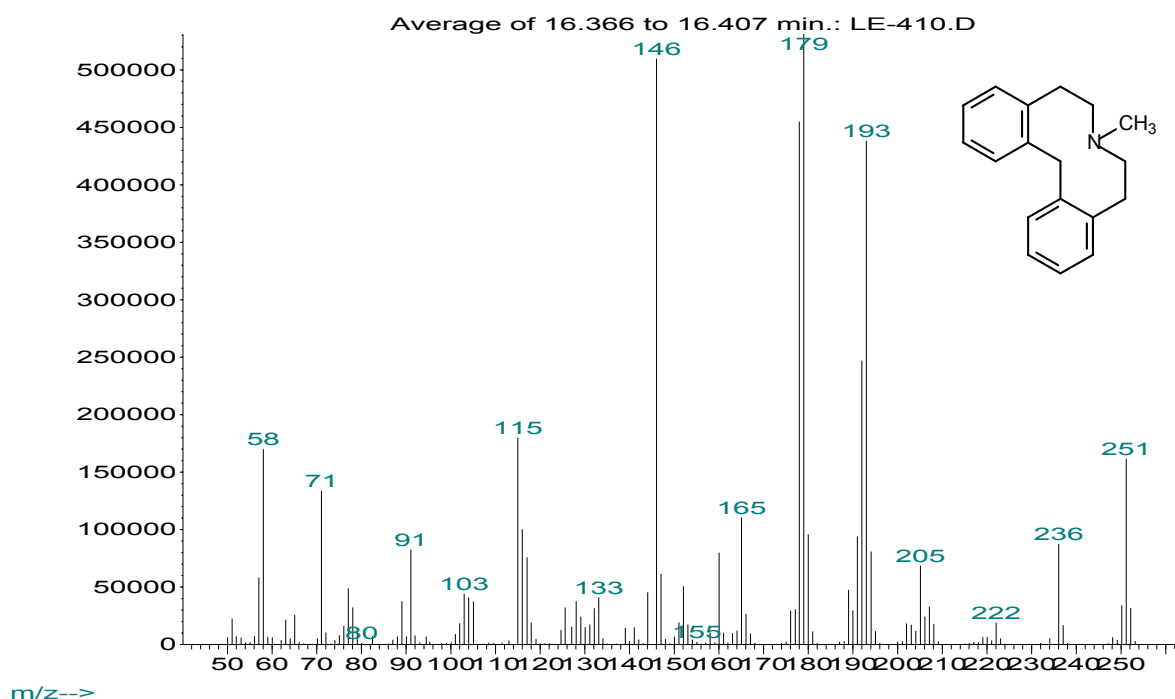


Abb. B.116: Massenspektrum von 7-Methyl-5,6,7,8,9,14-hexahydrodibenz[*d,g*]azecin (**44**)

Betrachtet man das Massenspektrum des völlig unsubstituierten Azecins **44** (s. Abb. B.116), so erkennt man den Molekülpeak von 251 m/z mit einer relativen Intensität von 31% und das erste Fragment mit der Masse 236 m/z, welches als $[M-15]^+$ -Fragment durch Spaltung der Methyl-Gruppe erreicht wurde. Als besonders charakteristisch erwiesen sich die Fragmente mit den Massen 193, 179, 165 und 146 m/z.

Das Molekülion, hier als Radikalkation formuliert, sollte vor allem im Bereich des Azecinrings gespalten werden können. So erscheint eine β -Spaltung zweier Bindungen besonders sinnvoll, da ein Angriff auf benzyliche Positionen in der Regel begünstigt ablaufen sollte (s. Abb. B.117). Die so postulierte Spaltung führt zu einem Kation der Formel $[C_{15}H_{13}]^+$, welches

sich in das stabilere Annulen-Derivat umsetzen könnte, da ein Ringschluss die Delokalisierung der positiven Ladung und damit die Stabilität des Fragments ermöglicht.

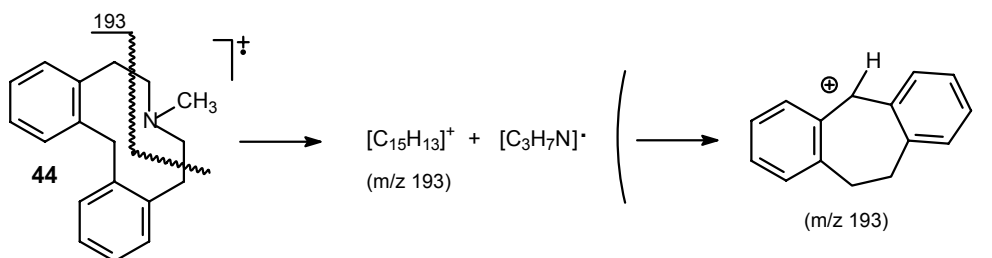


Abb. B.117: Bildung des Fragments der Masse 193 m/z

Das Kation mit der Masse 179 m/z, welches ebenfalls durch Spaltung zweier Methylen-Gruppen des Azecinrings erhalten werden kann, bildet das Fragment $[C_{14}H_{11}]^+$. Dieses könnte sich in das stabilere 9,10-Dihydroanthracen-Derivat umsetzen, da auch hier die positive Ladung durch Delokalisierung optimal stabilisiert wird.

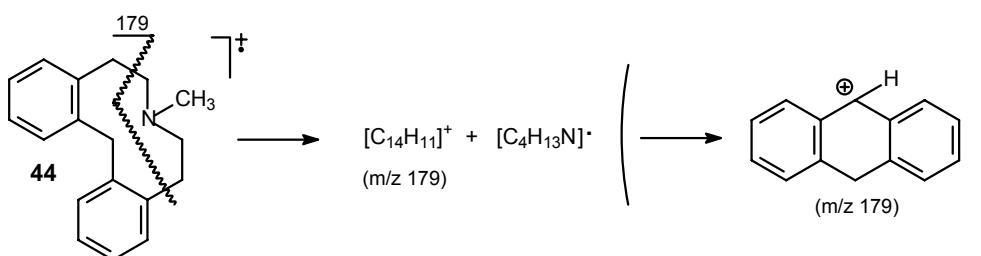


Abb. B.118: Bildung des Fragments der Masse 179 m/z

Gleiches gilt für das Bruchstück mit der Masse 165 m/z, welches durch Spaltung des Moleküliions in das Kation $[C_{13}H_9]^+$ und das Radikal $[C_5H_{11}N]^\cdot$ erzeugt werden kann. Ringschluss zum 9H-Fluoren führt dann ebenfalls zu einem stabileren Fragment.

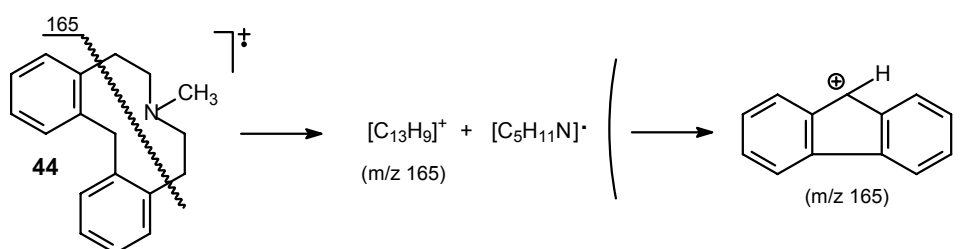


Abb. B.119: Bildung des Fragments der Masse 165 m/z

Ein weiteres für Dibenz[d,g]azecine typisches Fragment kann direkt aus dem Moleküliion (Weg b) oder auch aus dem $[M-15]^+$ -Ion (Weg a) formuliert werden. So könnte durch Spaltung der Methylen-Gruppe zwischen den Aromaten und in benzylicher bzw. β -Position

das $[\text{C}_{10}\text{H}_{12}\text{N}]^+$ -Fragment mit der Masse 146 m/z gebildet werden. Durch Ringschluss zum Dihydroisochinolin-Derivat kann sich die positive Ladung wieder stabilisieren.

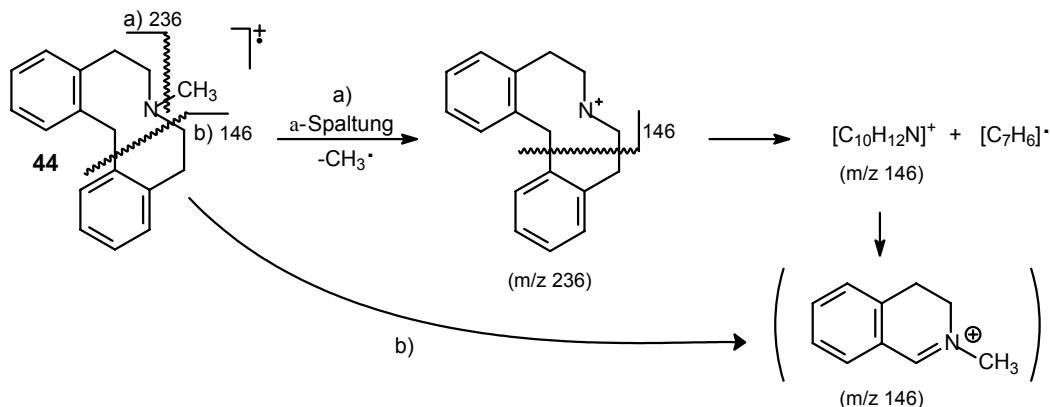


Abb. B.120: Bildung des Fragments der Masse 146 m/z

Wie bei aromatischen Verbindungen charakteristisch erscheint bei allen Azecin-Spektren das Fragment der Masse 91 m/z, das durch Spaltung benzylicher Bindungen entsteht und sich zum Tropylium-Kation umlagert.

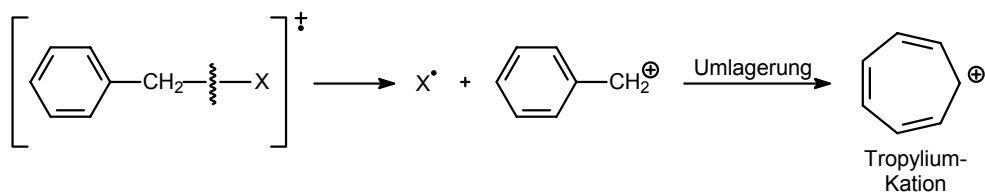


Abb. B.121: Bildung des Tropylium-Kations mit der Masse 91 m/z

Das Bruchstück der Masse 58 m/z erscheint ebenfalls in allen Azecin-Spektren als unspezifisches Fragment für Amine. Hierbei wird es sich um das Kation $[\text{C}_3\text{H}_8\text{N}]^+$ handeln, welches durch Spaltungen am Azecinringsystem entsteht.

b) Fragmentierung von 5,6,7,8,9,14-Hexahydrodibenz[d,g]azecin (**34**)

Die Fragmente mit den Massen 193, 179 und 165 m/z findet man ebenfalls im Massenspektrum der unsubstituierten „NH-Verbindung“ **34** (s. Kap. B.2.2, Abb. B.17). Das Bruchstück der Masse 146 m/z erscheint hier nicht als einer der Hauptpeaks, sondern nur mit einer relativen Intensität von 12%. Der 100%-Peak wird von einem Fragment der Masse 132 m/z gebildet. Hierbei muss es sich um das um eine Methyl-Gruppe reduzierte Isochinolin-Derivat der Summenformel $[\text{C}_9\text{H}_{10}\text{N}]^+$ handeln (s. Abb. B.122), das analog dem Fragment der Masse 146 m/z entstanden ist. Dies bestätigt das für das Azecin **44** aufgestellte Fragmentierungsmuster.

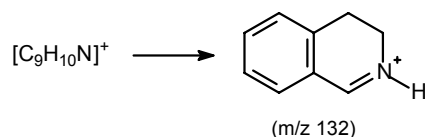
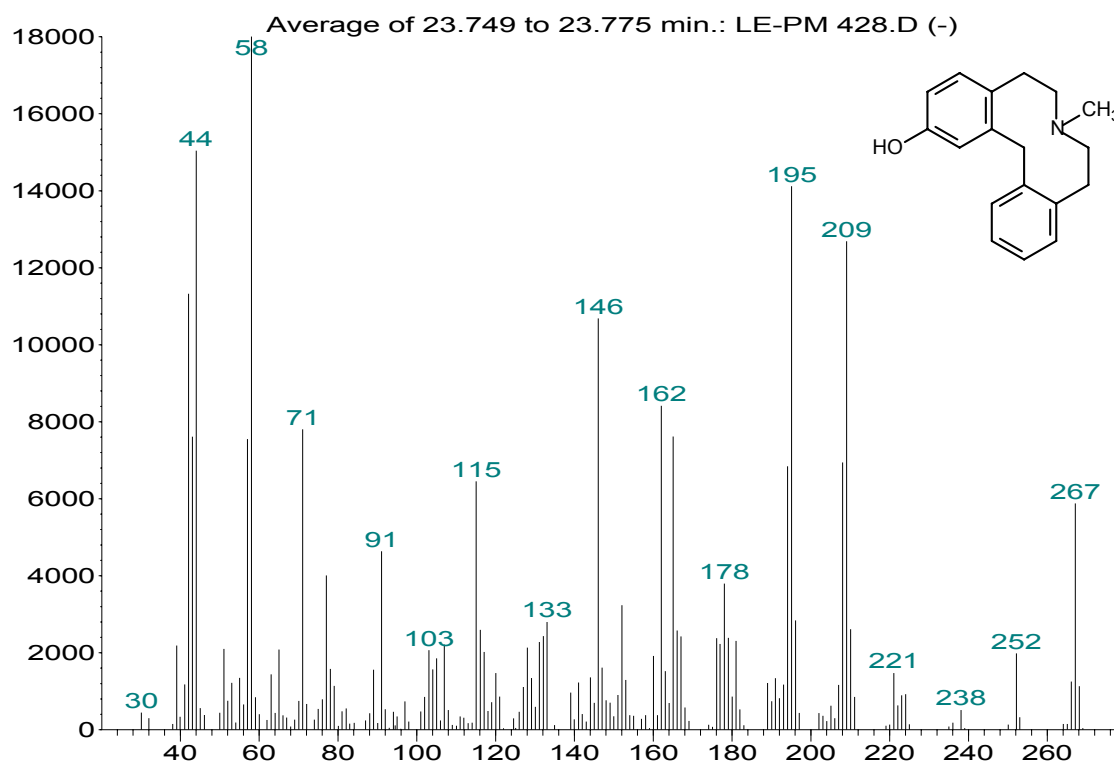


Abb. B.122: Hauptfragment der Masse 132 m/z aus 5,6,7,8,9,14-Hexahydrodibenz[d,g]azecin (**34**)

c) Fragmentierung von 2-Hydroxy-7-methyl-5,6,7,8,9,14-hexahydrodibenz[d,g]azecin (**91**)

Als ein Beispiel für substituierte Azecine wurde das Spektrum des Hydroxy-Derivats **91** genauer untersucht. Auch hier zeigt sich das typische Fragmentierungsmuster dieser Substanzklasse. Der Molekülpeak von 267 m/z erscheint mit 33% relativer Intensität, gefolgt vom demethylierten $[\text{M}-15]^+$ -Peak mit der Masse 252 m/z. Die oben erwähnten Ionen der Masse 193 und 179 m/z erscheinen hier aufgrund der Substitution am Aromaten nicht. Stattdessen sind diese beiden Peaks um 16 m/z, also um ein O-Atom, schwerer als bei **44** beschrieben und bilden die Kationen der Massen 195 und 209 m/z (s. Abb. B.124). Das dem Fragment der Masse 165 m/z analoge, um 16 m/z schwerere Kation (181 m/z) erscheint hier nur in sehr geringer relativer Intensität, da es scheinbar instabiler ist und so weniger gebildet bzw. weiter umgesetzt wird.

Abundance



m/z-->

Abb. B.123: Massenspektrum von 2-Hydroxy-7-methyl-5,6,7,8,9,14-hexahydrodibenz[d,g]azecin (**91**)

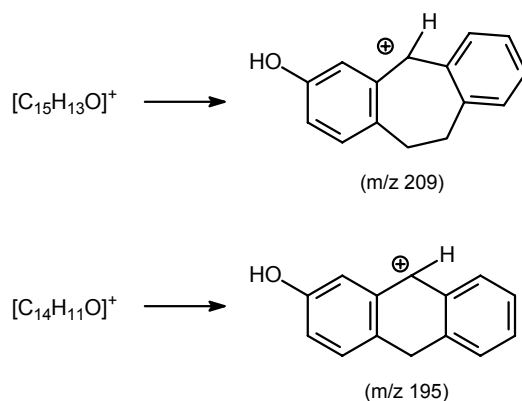


Abb. B.124: Fragmente aus 2-Hydroxy-7-methyl-5,6,7,8,9,14-hexahydrodibenz[d,g]azecin (**91**)

Das Kation der Masse 146 m/z erscheint ebenfalls im Spektrum des Azecins **91**. Zusätzlich aber auch das um ein O-Atom schwerere Isochinolin-Derivat (162 m/z), da formal eine Spaltung in Längsrichtung oberhalb und unterhalb der gedachten C-N-Bindung erfolgen kann und somit das hydroxylierte und das unsubstituierte Isochinolin-Kation gebildet wird.

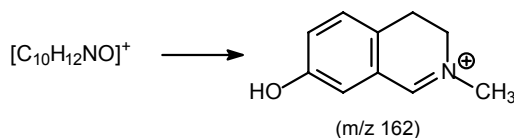


Abb. B.125: Fragment aus 2-Hydroxy-7-methyl-5,6,7,8,9,14-hexahydrodibenz[d,g]azecin (**91**)

Die beiden Fragmente der Massen 91 und 58 m/z erscheinen ebenfalls wieder, wobei Letzteres den 100%-Peak bildet.

d) Fragmentierung von 3-Chloro-2-hydroxy-7-methyl-5,6,7,8,9,14-hexahydrodibenz[d,g]-azecin (**100**)

Durch den Einfluss des Chlor-Substituenten in **100** wird die Zuordnung der einzelnen Fragmente im Massenspektrum erschwert. Der Molpeak von 301 m/z erscheint wieder mit einer relativen Intensität zwischen 30 und 40% und lässt eindeutig die Chlor-Substitution erkennen, da das um zwei Masseneinheiten schwerere Isotop ^{37}Cl ein Signal erzeugt, welches in seiner Intensität ca. ein Drittel des Hauptsignals entspricht. So erscheint neben dem Molekülpeak von 301 m/z auch das entsprechende Isotop von 303 m/z. Gleich bleiben die Fragmente mit den Massen 165, 146, 91 und 58 m/z, die beim Azecin **44** näher erläutert wurden. Die beiden Fragmente der Massen 209 und 195 m/z (s. Abb. B.126) erscheinen im Spektrum des Azecins **100** um ein Proton nach unten bzw. nach oben verschoben. Dies kann man bei allen einfach chlorierten Azecinen beobachten, die alle das exakt gleiche Fragmentierungsmuster aufweisen, allerdings mit leicht unterschiedlichen relativen Intensitäten.

Abundance

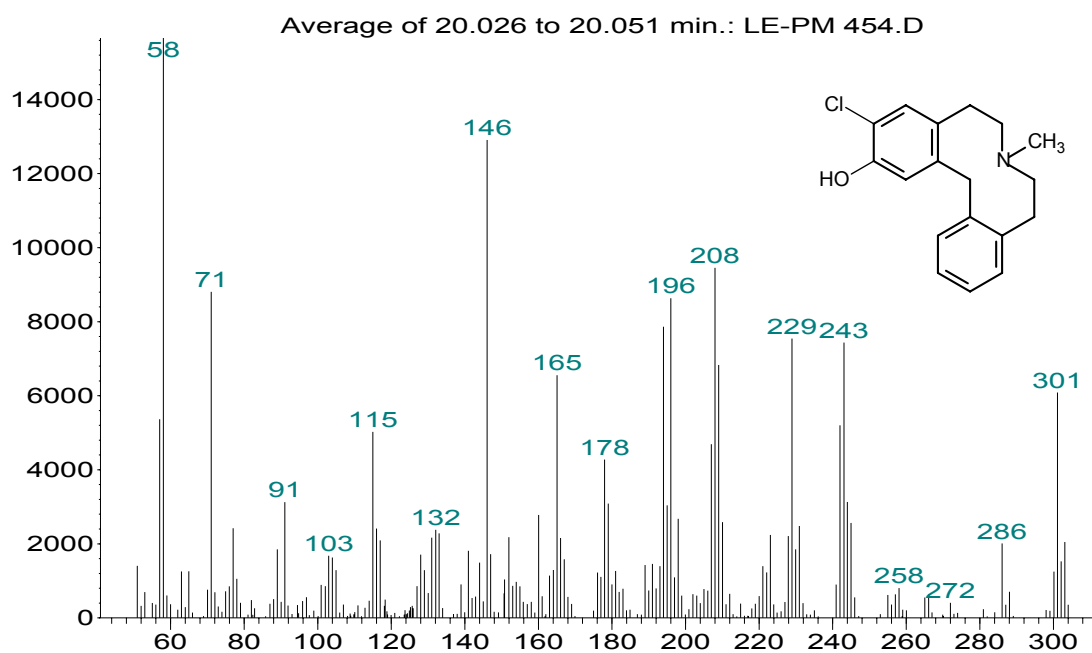


Abb. B.126: Massenspektrum von 3-Chloro-2-hydroxy-7-methyl-5,6,7,8,9,14-hexahydrodibenz[d,g]azecin (100)

e) Fragmentierung von 3-Methoxy-7-methyl-5,6,7,8,9,14-hexahydrodibenz[d,g]azecin (61)

Abundance

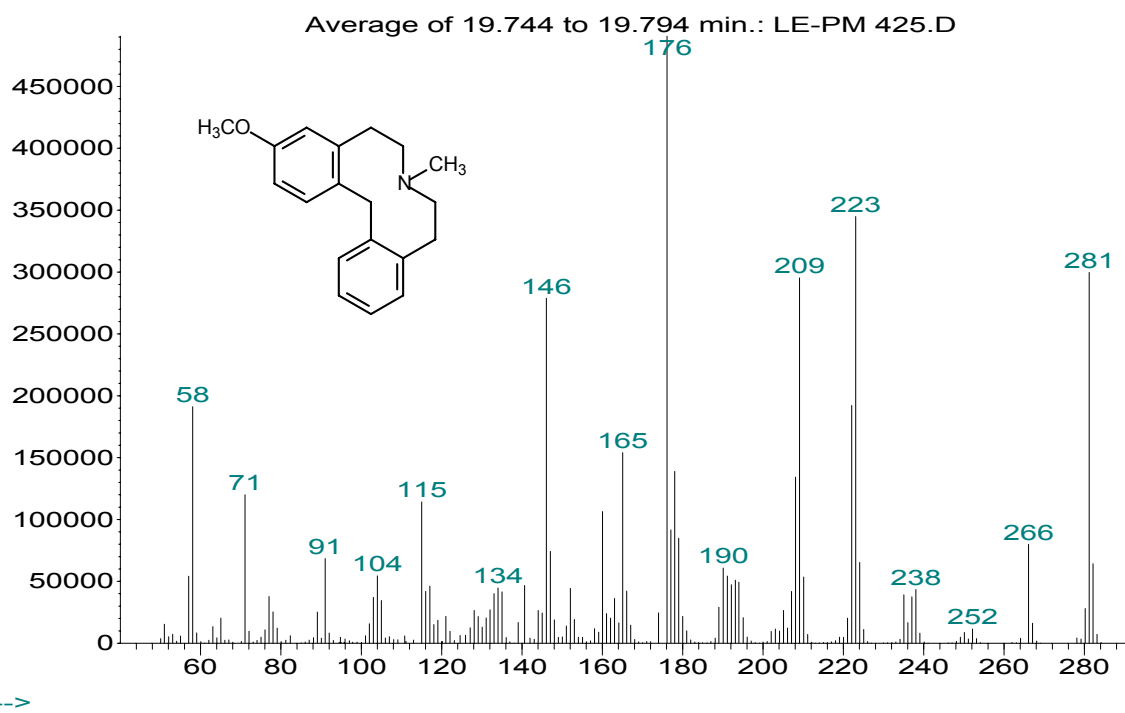


Abb. B.127: Massenspektrum von 3-Methoxy-7-methyl-5,6,7,8,9,14-hexahydrodibenz[d,g]azecin (61)

Das bisher Gesagte lässt sich auch auf das methoxylierte Azecin **61** anwenden. Hier erscheinen neben dem Molekülsignal von 281 m/z die schon beschriebenen Fragmente der Massen 266, 165, 146, 91 und 58 m/z. Das um 30 Masseneinheiten bzw. eine Methoxy-Gruppe schwerere 176 m/z-Fragment ist in Abb. B.128 dargestellt.

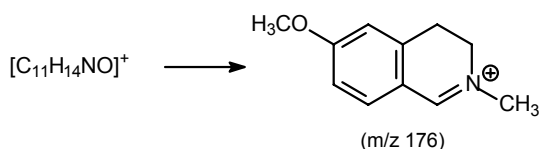


Abb. B.128: Hauptfragment der Masse 176 m/z aus 3-Methoxy-7-methyl-5,6,7,8,9,14-hexahydrodibenz[d,g]azecin (**61**)

Ebenso lassen sich die Bruchstücke mit den Massen 223 und 209 m/z formulieren. Sie bilden die methoxylierten Annulen- und Anthracen-Kationen, die analog der beim Azecin **44** beschriebenen Spaltung entstanden sind (s. Abb. B.129).

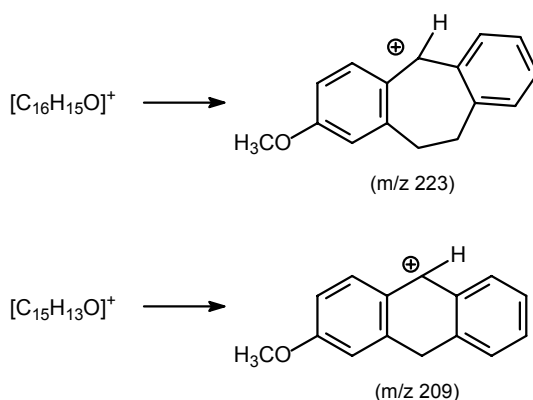


Abb. B.129: Fragmente von 3-Methoxy-7-methyl-5,6,7,8,9,14-hexahydrodibenz[d,g]azecin (**61**)

f) Fragmentierung von 3,11-Dihydroxy-7-methyl-5,6,7,8,9,14-hexahydrodibenz[d,g]azecin (**123**)

Als letztes Beispiel der Fragmentierung von Azecinen dient das dihydroxylierte Derivat **123**. Der Molekülpeak besitzt wie erwartet die Masse 283 m/z mit einer relativen Intensität von 39%. Die Massen 211 und 225 m/z bilden die um zwei O-Atome (32 m/z) schwereren Kationen $[C_{15}H_{13}O_2]^+$ und $[C_{14}H_{11}O_2]^+$, analog der Fragmentbildung in **44**.

Als 100%-Peak erscheint das Signal der Masse 162 m/z. Interessant ist hier, dass das Fragment mit der Masse 146 m/z nicht gebildet wird. Dies bestätigt die weiter oben beschriebene Fragmentierung des Hydroxy-Azecins **91**, da eine Spaltung längs der C-N-Bindung und Ringschluss aufgrund der Symmetrie der Verbindung **123** zu gleichen Kationen führt. Dadurch kommt es zu einem Anstieg der relativen Intensität dieses Signals, da es doppelt so häufig gebildet wird.

Abundance

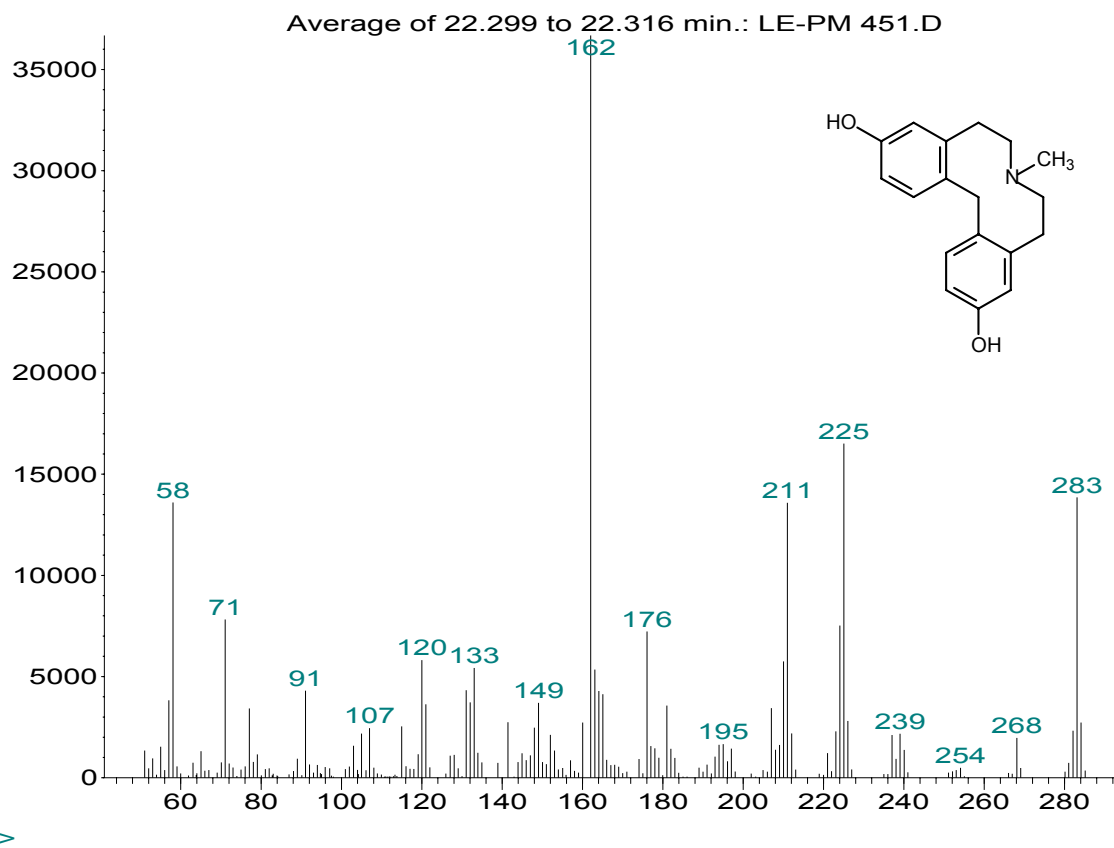


Abb. B.130: Massenspektrum von 3,11-Dihydroxy-7-methyl-5,6,7,8,9,14-hexahydrodibenz[d,g]azecin (123)

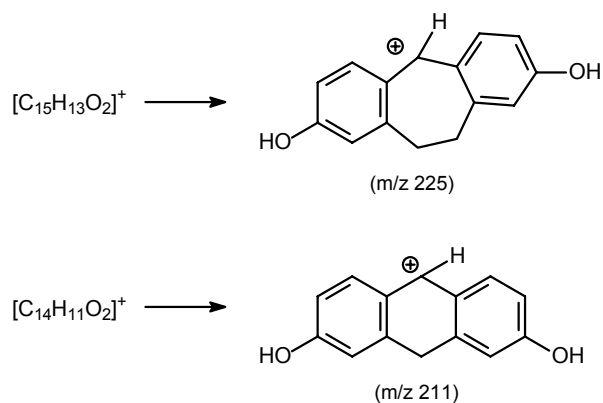


Abb. B.131: Fragmente von 3,11-Dihydroxy-7-methyl-5,6,7,8,9,14-hexahydrodibenz[d,g]azecin (123)

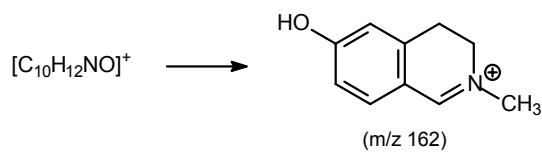


Abb. B.132: Hauptfragment von 3,11-Dihydroxy-7-methyl-5,6,7,8,9,14-hexahydrodibenz[d,g]azecin (123)

Die vorliegenden Fragmentierungen verschiedener Massenspektren von Dibenz[*d,g*]azecinen lassen sich ebenso auf alle anderen in dieser Arbeit hergestellten Azecin-Derivate anwenden, so dass nun eine sichere Strukturaufklärung dieser Substanzklasse durch GC/MS-Analytik zur Verfügung steht. Dies ermöglicht darüberhinaus die sichere Zuordnung eines Azecins aus einem Gemisch, so dass auch die Bildung kleinerer Mengen beobachtet werden kann und eine effektive Reaktionsführung möglich macht.

B.10.3 Fragmentierungsmuster einiger Dibenzo[*a,h*]chinolizine

a) Fragmentierung von 5,6,8,9-Tetrahydro-13*bH*-dibenzo[*a,h*]chinolizin (**26**)

Alle Dibenzo[*a,h*]chinolizine zeichnen sich im Massenspektrum, ebenso wie Dibenz[*d,g*]azecine (s. Kap. B.10.2), durch ein typisches Fragmentierungsmuster aus. Im Gegensatz zu den schon vorgestellten Azecinen erscheinen hier die Spektren relativ einfach, da kaum stabile Fragmente gebildet werden und das [M-1]-Ion immer als 100%-Peak vorliegt.

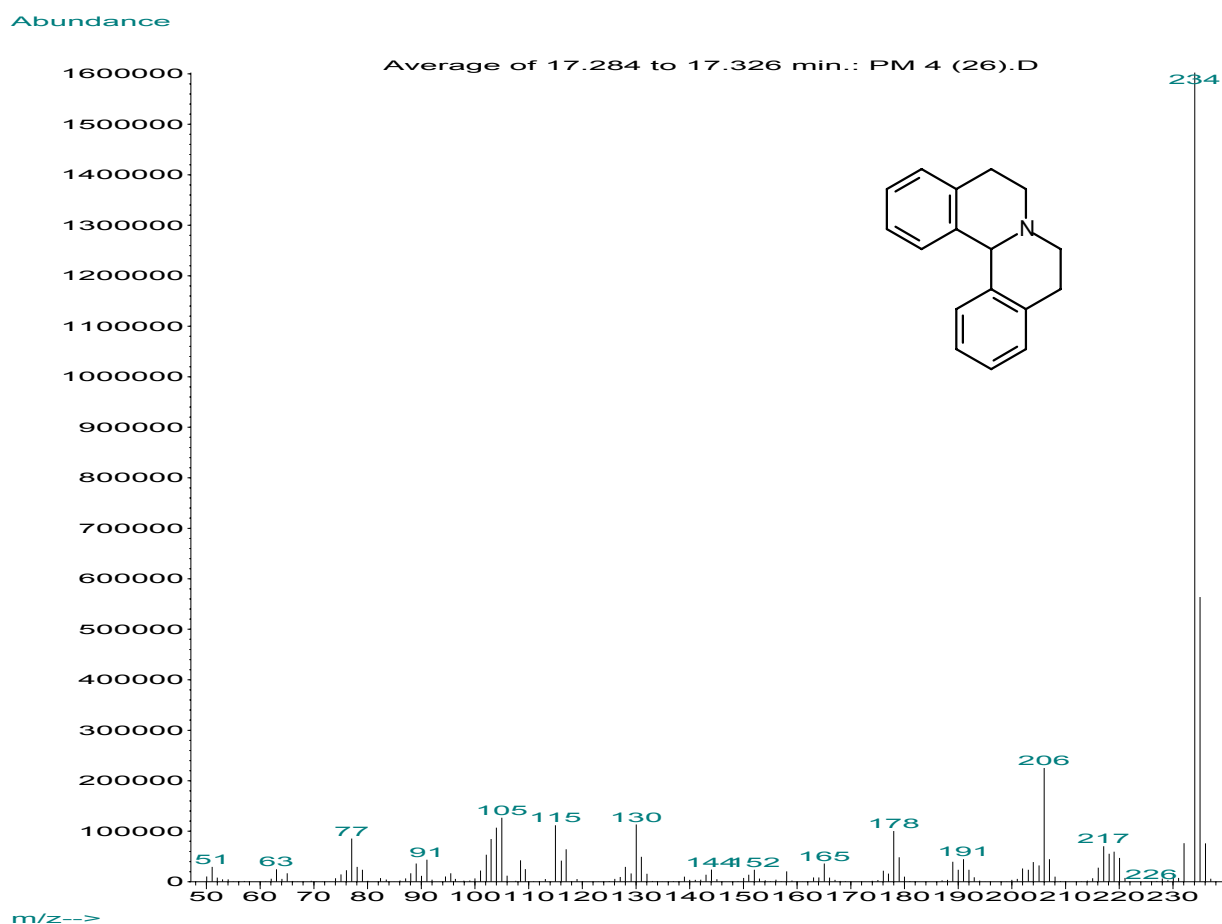


Abb. B.133: Massenspektrum von 5,6,8,9-Tetrahydro-13*bH*-dibenzo[*a,h*]chinolizin (**26**)

Im Spektrum des Chinolizins **26** mit einer Masse von 235 g/mol erkennt man deutlich das Hauptfragment mit einer Masse von 234 m/z. Dieses $[M-H]^+$ -Signal ist charakteristisch für diese Klasse der Chinolizine und tritt häufig bei aromatischen Heterozyklen auf [Rücker, 2001]. Antonaccio *et al.* [Antonaccio, 1962] konnte für Indol-Alkaloide zeigen, dass durch Verlust des benzylichen Protons unter Bildung des entsprechenden Isochinolizinium-Salzes solche stabilen Hauptfragmente entstehen. Abb. B.134 zeigt die Bildung des Hauptfragments des unsubstituierten Chinolizins **26**.

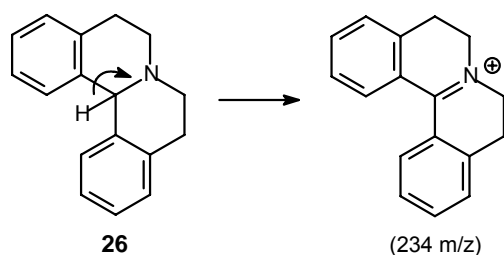


Abb. B.134: Bildung des Hauptfragments von 5,6,8,9-Tetrahydro-13bH-dibenzo[a,h]chinolizin (**26**)

Die weiteren, in sehr geringen relativen Intensitäten auftretenden Fragmente wurden aufgrund des sehr stabilen Ringsystems kaum gebildet und liessen sich nur schwer bestimmten Strukturen zuordnen. Das Bruchstück mit der Masse 206 m/z ist mit 14% relativer Intensität das zweitgrößte Fragment und erscheint als $[M-29]^+$ -Ion. Dies könnte für die Abspaltung eines Ethyl-Radikals sprechen.

b) Fragmentierung von 3-Hydroxy-5,6,8,9-tetrahydro-13bH-dibenzo[a,h]chinolizin (**70**)

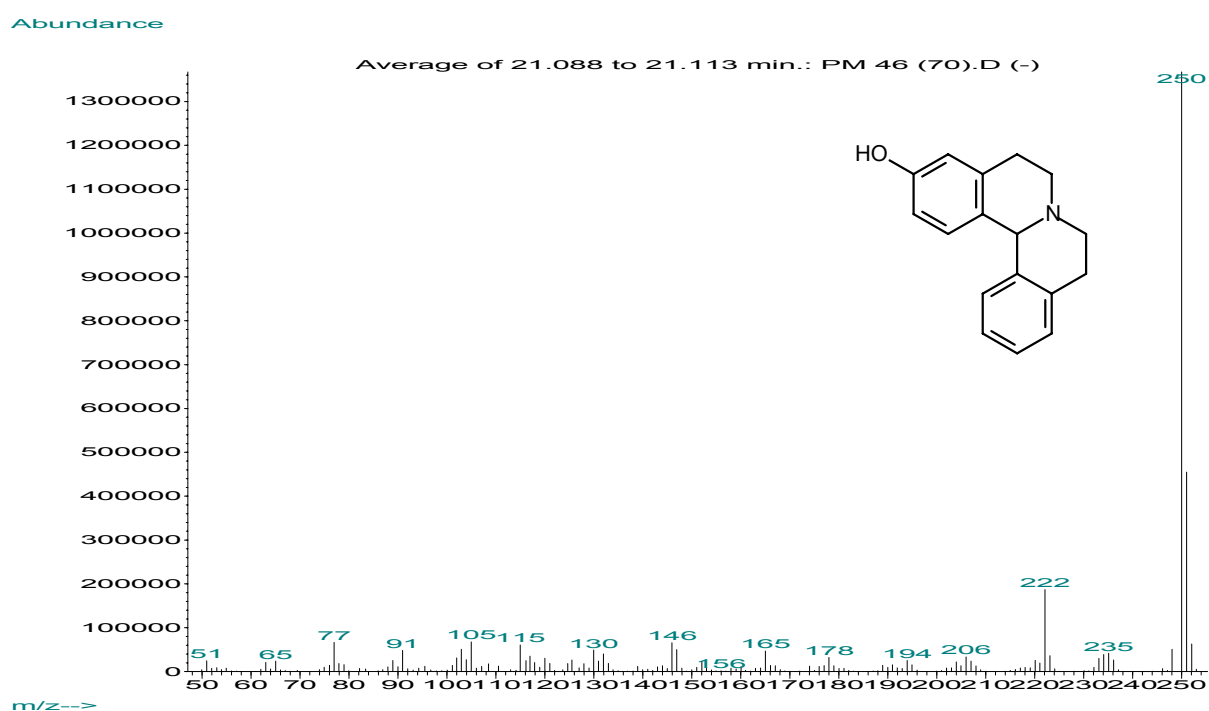


Abb. B.135: Massenspektrum von 3-Hydroxy-5,6,8,9-tetrahydro-13bH-dibenzo[a,h]chinolizin (**70**)

Ebenso erscheint im Spektrum des Hydroxychinolizin-Derivat **70** (251 g/mol) wieder der 100%-Peak als $[M-H]^+$ -Signal mit der Masse 250 m/z, während die weiteren Fragmentationen kaum auftreten. Auch der $[M-29]^+$ -Peak mit einer Masse von 222 m/z erscheint wieder mit gleicher Intensität von knapp 14%.

Weitere Dibenzo[*a,h*]chinolizine zeichnen sich, abhängig von ihrer Masse, durch exakt gleiche Fragmentierungen auf.

B.10.4 Fragmentierungsmuster von N-substituierten Isochinolin-Derivaten

Da Lactame der Struktur **140** und deren reduzierte Isochinolin-Derivate als Nebenprodukte bei der Bischler-Napieralski-Zyklisierung auftreten können (s. Kap. B.4.1) und im Rahmen dieser Arbeit auch gezielt hergestellt wurden (s. Kap. B.8), soll im Folgenden kurz auf das typische Fragmentierungsmuster dieser beiden Substanzklassen eingegangen werden.

a) Fragmentierung von 2-[2-(3-Methoxyphenyl)ethyl]-3,4-dihydroisochinolin-1(2*H*)-on (**138**)

Abundance

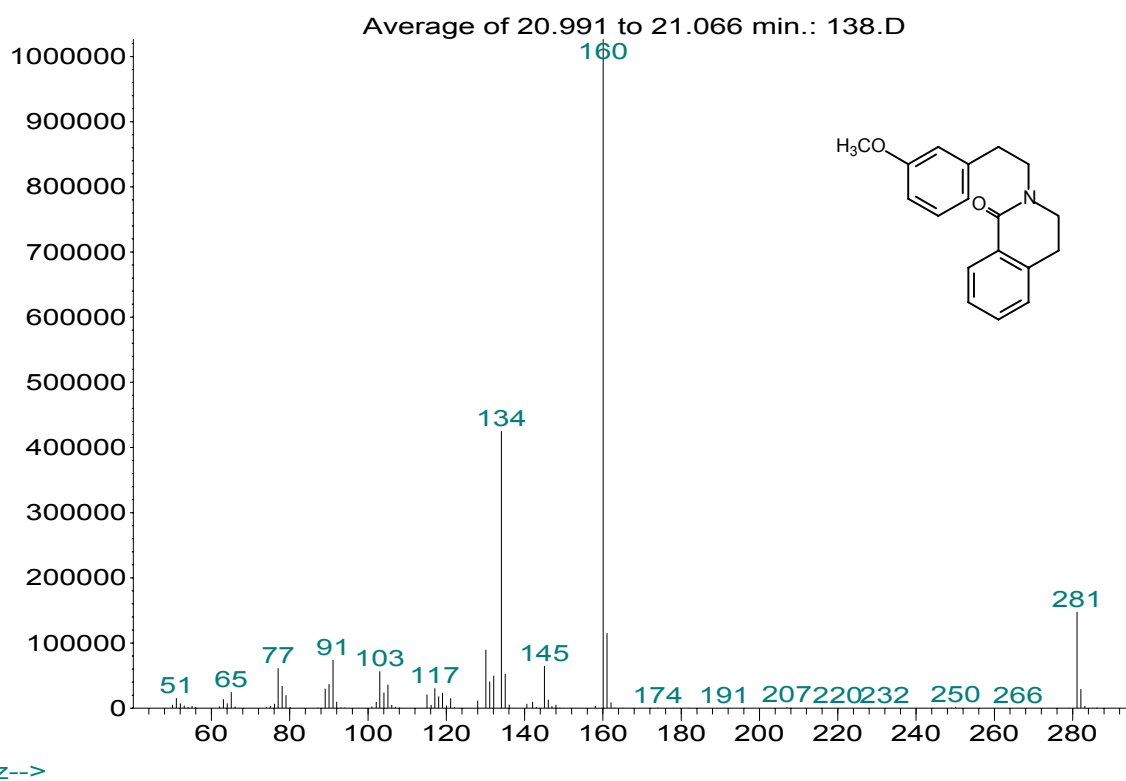


Abb. B.136: Massenspektrum von 2-[2-(3-Methoxyphenyl)ethyl]-3,4-dihydroisochinolin-1(2*H*)-on (**138**)

Im Massenspektrum erscheint als charakteristischer 100%-Peak das Fragment mit der Masse 160 m/z, welches durch α -Spaltung der benzylicsen Position erhalten wird. Alle anderen Fragmente besitzen nur eine sehr geringe relative Intensität und wurden hier nicht weiter analysiert. Der Molpeak von 281 m/z erscheint ebenfalls nicht sehr ausgeprägt. Abb. B.137 zeigt die Bildung des Hauptfragments mit der Masse 160 m/z.

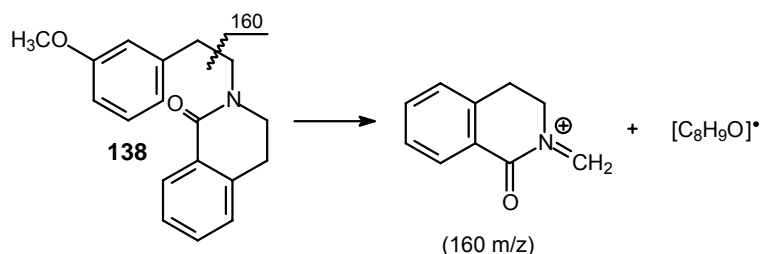


Abb. B.137: Bildung des Hauptfragments aus 2-[2-(3-Methoxyphenyl)ethyl]-3,4-dihydroisochinolin-1(2H)-on (**138**)

Dieses Hauptfragment in Kombination mit Bruchstücken geringer relativer Intensität kann man analog bei ähnlichen Lactam-Derivaten erkennen, so dass im Massenspektrum eine Zuordnung zu einem möglicherweise gebildeten Lactam einfach ist.

b) Fragmentierung von 2-[2-(3-Methoxyphenyl)ethyl]-1,2,3,4-tetrahydroisochinolin (**139**)

Wie in Kap. B.8 bereits beschrieben, konnten Lactame wie **138** mit Lithiumaluminiumhydrid zu Tetrahydroisochinolin-Derivaten reduziert werden. Diese erzeugen im Massenspektrum ein ähnliches Fragmentierungsmuster. Am Beispiel des Isochinolins **139** erkennt man wieder deutlich ein Signal der relativen Intensität von 100%, während alle anderen Bruchstücke kaum erscheinen (zwischen 0-7 % rel. Int.). Hier besitzt dieses Fragment die Masse von 146 m/z und wird ebenfalls über α -Spaltung der benzylicsen Bindung erhalten (s. Abb. B.138).

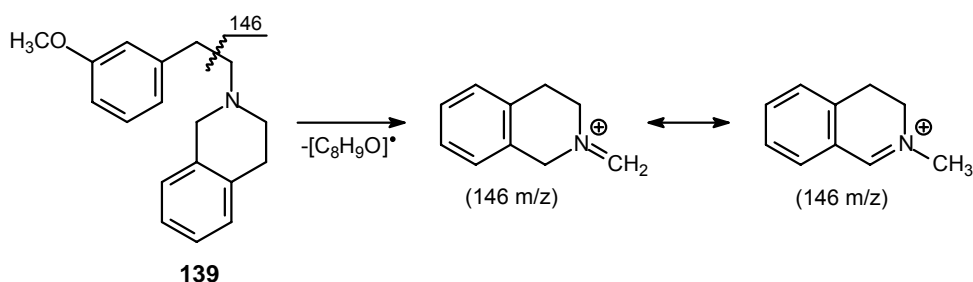


Abb. B.138: Bildung des Hauptfragments aus 2-[2-(3-Methoxyphenyl)ethyl]-1,2,3,4-tetrahydroisochinolin (**139**)

Abundance

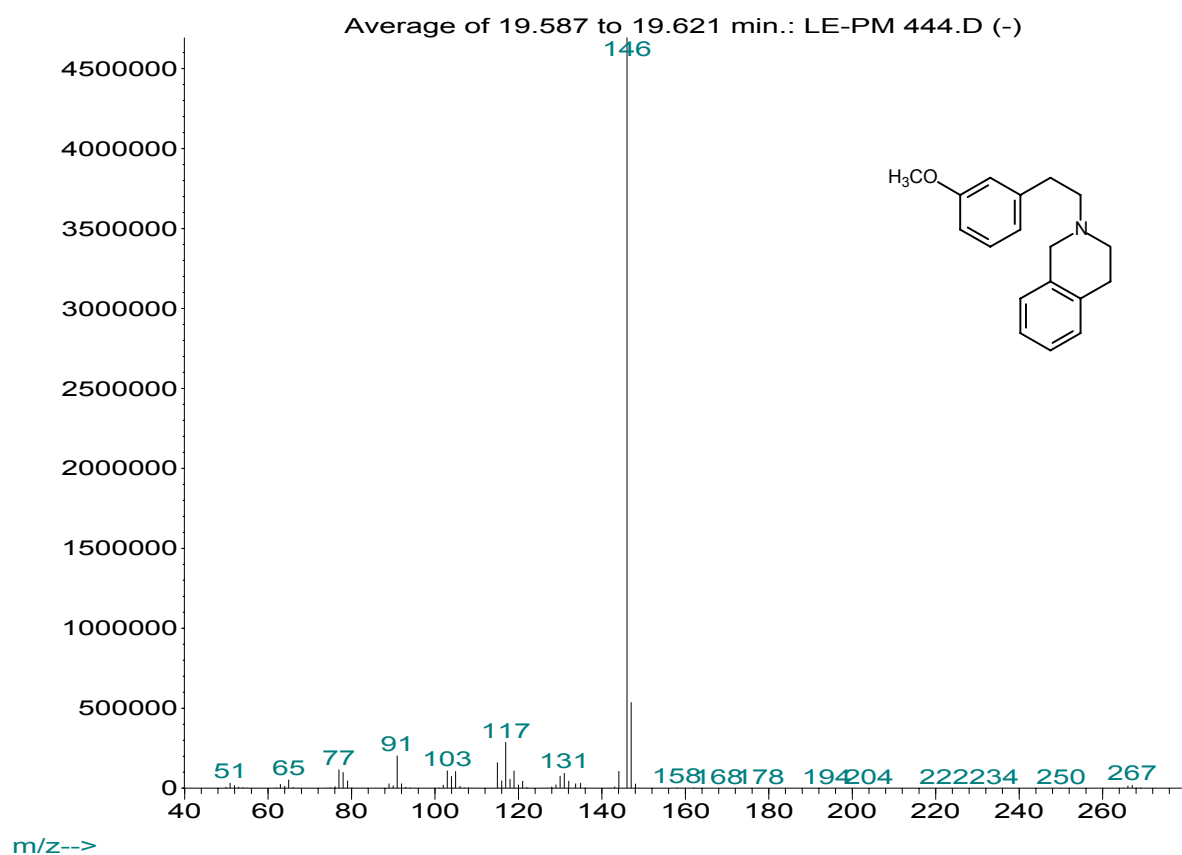
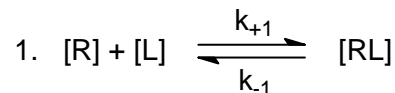


Abb. B.139: Massenspektrum von 2-[2-(3-Methoxyphenyl)ethyl]-1,2,3,4-tetrahydroisochinolin (139=LE-PM 444)

C. Pharmakologischer Teil

C.1 Theoretische Grundlagen der Radioligandbindungsstudien

Die im experimentellen Teil (s. Kap. G.2) vorgestellten Versuche zur Radioligandbindung beruhen auf einer reversiblen Interaktion eines Radioliganden L, in Form eines kompetitiven Antagonisten, mit der Bindungsstelle der jeweiligen Rezeptoren R, die hier Dopaminrezeptor-Subtypen darstellen, im Gleichgewicht.



[R]; [L]: Konzentration des Rezeptors bzw. des Liganden

k_{+1} ; k_{-1} : Assoziations- bzw. Dissoziationsgeschwindigkeitskonstante

[RL]: Konzentration des Rezeptor-Ligand-Komplexes

Die Reaktionsgleichung 1 gehorcht dem Massenwirkungsgesetz. Für das hier untersuchte Experiment soll sich das System im Gleichgewicht befinden, d.h. die Bildung und der Zerfall eines Rezeptor-Ligand-Komplexes erfolgt mit gleicher Geschwindigkeit, so dass die Gleichgewichts-Dissoziationskonstante K_D formuliert werden kann:

$$2. \quad K_D = \frac{k_{+1}}{k_{-1}} = \frac{[R] [L]}{[RL]}$$

Diese Konstante ist ein Maß für die Affinität eines Liganden zum Rezeptor und besagt, dass sich bei einem abnehmenden K_D -Wert der Anteil an freien Liganden bzw. Rezeptoren verringert und damit die Affinität zunimmt. So lässt sich der K_D -Wert als die freie Ligandkonzentration $[L]_{0.5}$ definieren, bei der die Hälfte aller Rezeptoren besetzt ist:

$$3. \quad K_D = [L]_{0.5}$$

Durch die begrenzte Anzahl der Bindungsstellen eines Rezeptors muss die spezifische Bindung zwischen einem Radioliganden und einem Rezeptor sättigbar sein. Dies lässt sich durch die maximale Bindungskapazität B_{\max} beschreiben, die sich aus der Summe der freien Rezeptor- und der gebundenen Rezeptorkonzentration ($[R]$ bzw. $[RL]$) ergibt:

$$4. \quad B_{\max} = [R] + [RL]$$

Durch Verknüpfen der beiden Reaktionsgleichungen 2 und 4 erhält man eine Gleichung, die als Hill-Langmuir'sche Sättigungsisotherme bekannt geworden ist:

$$5. \quad [RL] = \frac{B_{\max} [L]}{K_D + [L]}$$

Gleichung 5 verdeutlicht also die Zunahme der Rezeptor-Ligand-Komplex-Konzentration [RL] in Abhängigkeit zur freien Ligandkonzentration [L] bis zur Sättigung der maximal vorhandenen Rezeptoren.

Im Gegensatz zur spezifischen Bindung, die wie oben gezeigt, sättigbar ist, steigt die unspezifische Bindung linear zur freien Ligandkonzentration [L] an und sollte idealerweise unabhängig von der spezifischen Bindung vorliegen. So kann die Gesamtaufnahme des Radioliganden in ein Gewebe durch die Summe beider Bindungen gebildet werden.

Praktisch erfolgt eine Messung beider Bindungen durch Erstellen einer Konzentrationsreihe von [L], wobei eine Sättigung der spezifischen Bindung erlaubt wird. K_D und B_{\max} können dann anhand der aufgenommenen Daten berechnet werden, indem man die Menge an gebundenen Radioliganden als Funktion der Radioligandkonzentration oder der Inhibitorkonzentration aufträgt (Sättigungs- bzw. Konkurrenzexperimente).

Zum Abschätzen dieser Bindungsparameter lässt sich die Langmuir-Isotherme durch den Scatchard Plot [Scatchard, 1949] transformieren, was zu einer Linearisierung der Bindungskurve führt:

$$6. \quad \frac{B}{L} = \frac{B_{\max}}{K_D} - \frac{B}{K_D}$$

Durch Auftragen der Messwerte von B/L auf der y-Achse gegen B auf der x-Achse soll sich eine Gerade bilden, aus der sich der K_D -Wert als negativer Kehrwert der Geradensteigung und B_{\max} aus dem y-Achsenabschnitt ablesen lässt. Ergeben die Messwerte dagegen keine Gerade, kann dies z.B. auf positive bzw. negative Kooperativität hindeuten.

Um zuverlässige Ergebnisse zu erhalten, sollte die Abschätzung der K_D - und B_{\max} -Werte unter Bedingungen erfolgen, die von Bennet *et al.* [Bennet, 1985] wie folgt beschrieben werden:

- Zum Zeitpunkt der Messung muss eine Gleichgewichtslage der Bindungspartner vorliegen.
 - Damit die Konzentration des freien Liganden [L] mit der des eingesetzten Liganden $[L_T]$ gleichgesetzt werden darf, dürfen maximal 10 % der eingesetzten Ligandkonzentration $[L_T]$ gebunden vorliegen.
 - Es darf keine Kooperativität vorliegen.
 - Um die Wahrscheinlichkeit einer Unterschätzung der Affinität zu vermeiden, sollte B_{\max} nicht mehr als 10% des K_D -Wertes betragen.
-

In dieser Arbeit wurden die B_{\max} - und die K_D -Werte wie bei Wittig [Wittig, 2004] beschrieben, nach der Zwei-Punkte-Methode bestimmt. Hierbei wird bei einer geringen und bei einer hohen Radioligandkonzentration das Verhältnis zwischen spezifischer und unspezifischer Bindung berechnet, so dass beide Konzentrationen nach Einsetzen in je eine Gleichung der Sättigungsisotherme (5), durch Gleichsetzen und Umformen der erhaltenen Gleichung den B_{\max} -Wert liefern. Durch Einsetzen dieses Wertes kann nach Umformen der K_D -Wert nach Lazareno *et al.* [Lazareno, 1995] berechnet werden:

$$7. \quad K_D = \frac{[L] (B_{\max} - [RL])}{[RL]}$$

Der so über die Zwei-Punkte-Methode erhaltene K_D -Wert wurde als Konstante zur K_i -Wert-Berechnung herangezogen und stellt ein Maß für die Affinität der getesteten Substanzen dar. Als Bindungsexperiment wurde die heterologe Kompetition verwandt, bei der ein sogenannter „kalter“ Ligand mit einem bekannten Radioliganden um die Bindungsstelle konkurriert und sich dabei Radioligand und Inhibitor strukturell voneinander unterscheiden. Die Konzentration des Radioliganden bleibt dabei konstant, während die Konzentration des nicht radioaktiv markierten („kalten“) Liganden schrittweise erhöht wird. Trägt man nun die Radioligandbindung in Abhängigkeit zur „kalten“ Ligandkonzentration halblogarithmisch auf, erhält man einen sigmoidalen Kurvenverlauf, der einer nichtlinearen Regressionsanalyse nach Hill [Hill, 1910] unterworfen wird. Dies erfolgte durch die Software Graph Pad Prism®, die im Idealfall einen Hill-Koeffizienten mit der Kurvensteilheit 1 ergeben sollte. Dies bedeutet, dass von einer Kompetition von Radioligand und Inhibitor an einer einheitlichen Rezeptorpopulation ausgegangen werden kann. Liegen die Werte über 1, so kann eine erhöhte Affinität durch bereits gebundene Liganden vorliegen (positive Kooperativität), während bei kleineren Werten eine negative Kooperativität oder mehrere, nicht miteinander interagierende Bindungsstellen mit jeweils unterschiedlicher Affinität zum untersuchten Liganden vorliegen. Am Wendepunkt der sigmoidalen Kurve lässt sich der IC_{50} -Wert ablesen, der der Konzentration des Inhibitors entspricht, bei der die spezifische Bindung des Radioliganden auf die Hälfte ihres Ausgangswertes reduziert wird.

Der so ermittelte IC_{50} -Wert, der von der Konzentration des Radioliganden $[L]$ abhängig ist, kann bei einer Kurvensteigung von 1 nach Erreichen des Reaktionsgleichgewichts in die konzentrationsunabhängige Gleichgewichtskonstante K_i umgerechnet werden. Dies geschieht nach Cheng und Prusoff [Cheng, 1973] bei bekannter Radioligandkonzentration $[L]$ und Gleichgewichtsdissoziationskonstanten K_D nach folgender Reaktionsgleichung:

$$8. \quad K_i = \frac{IC_{50}}{1 + [L] / K_D}$$

Der K_i -Wert mit der Einheit mol/l stellt eine thermodynamische Gleichgewichtsgröße dar, die die Konzentration des mittleren, an das Protein gebundenen Anteils des Liganden beschreibt.

Um aus der Reaktionsgleichung 8 die vorhandenen Bindungsstellen B_{\max} berechnen zu können, stellten De Blasi *et al.* [De Blasi, 1989] Gleichung 9 auf:

$$9. \quad B_{\max} = \frac{[RL]_{\text{spez.}} \times IC_{50}}{[L]}$$

$[RL]_{\text{spez.}}$: Konzentration des Rezeptor-Ligand-Komplexes (spez. Radioligandbindung) in Abwesenheit eines Inhibitors

C.2 Theoretische Grundlagen des Calcium-Assays

Bei dem hier angewandten Calcium-Assay handelt es sich um einen funktionellen Assay, der mit Hilfe eines Fluoreszenz-Microplate-Readers den durch agonistische Stimulation hervorgerufenen intrazellulären Ca^{2+} -Anstieg messen kann [Kassack, 2002]. Diese Stimulation entsteht durch Bindung eines Agonisten an die G-Protein-gekoppelten dopaminergen Rezeptoren, genauer an G_s - (D_1 , D_5) und G_i - (D_2 , D_3 , D_4) gekoppelte Rezeptoren, wodurch eine Signaltransduktionskaskade ausgelöst wird [Höfgen, 2002], die letztendlich den Ca^{2+} -Spiegel in der Zelle ansteigen lässt.

Dies kann durch Komplexierung des Calciums mit dem Fluoreszenz-Farbstoff Oregon Green[®] 488 BAPTA-1/AM (Molecular Probes, Leiden, NL) gemessen werden.

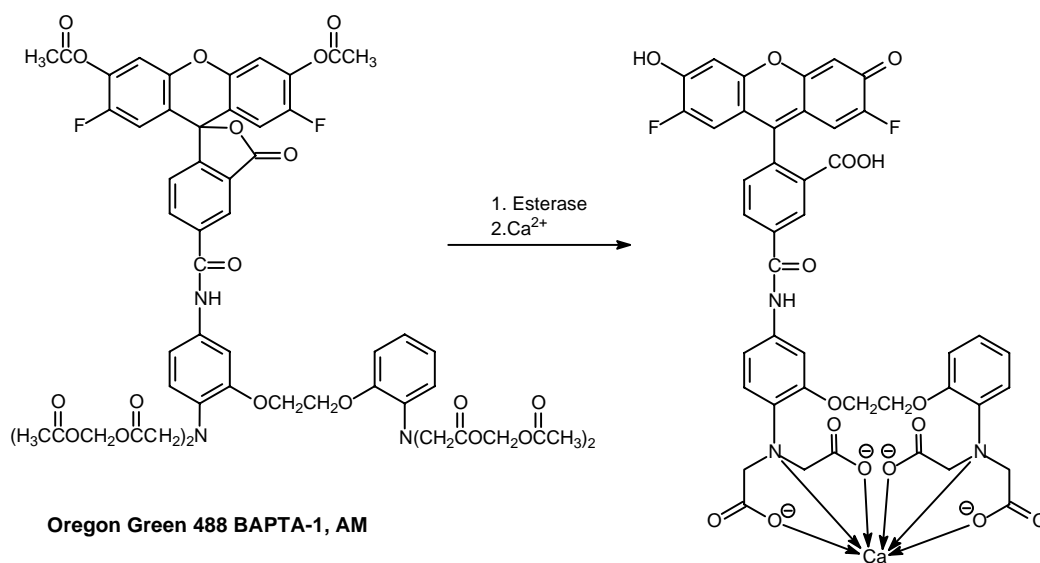


Abb. C.1: Komplexierung des Calciums durch den Fluoreszenz-Farbstoff Oregon Green[®] 488 BAPTA-1/AM im Zellinneren

Dieser Farbstoff besteht zum einen aus einem Fluorescein-ähnlichen Grundkörper (Oregon Green®), zum anderen aus einem für die Komplexierung essentiellen Rest in Form der sogenannten BAPTA-Gruppe (s. Abb. C.1). Diese besteht im Wesentlichen aus vier Carbonsäureestern, so dass das ungeladene Molekül relativ gut durch die Zellmembran penetrieren kann. Im Zellinneren werden sämtliche Esterbindungen des Moleküls durch Esterasen hydrolysiert, so dass einerseits der nun geladene Farbstoff in der Zelle verbleibt (s. Abb. C.2), andererseits durch die freien Carboxyl-Gruppen eine Komplexierung mit dem Calcium ermöglicht wird.

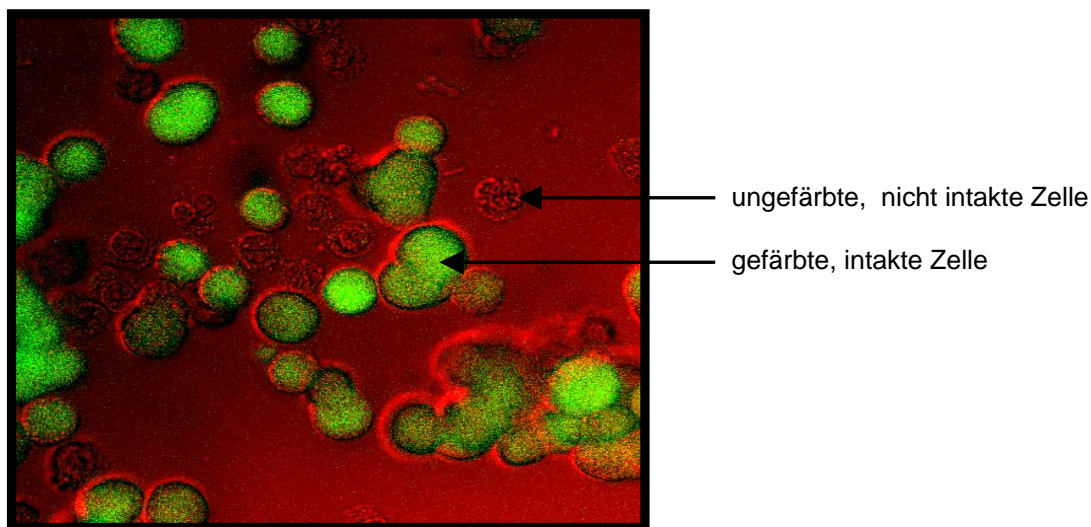


Abb. C.2: Übereinandergelagertes Transparent- und Fluoreszenzbild von HEK D₁-Zellen, welche mit Oregon Green® 488 BAPTA-1/AM beladen wurden (Falschfarbendarstellung)

Da die Fluoreszenz-Intensität des an Calcium gebundenen Farbstoffs 14fach stärker ist, als die des ungebundenen Farbstoffs, lässt sich so abhängig von der intrazellulären Ca²⁺-Konzentration ein Emissions-Spektrum aufnehmen, wodurch eine Berechnung der vorliegenden Ca²⁺-Konzentration nach Kao [Kao, 1994] ermöglicht wird:

$$1. \quad [\text{Ca}^{2+}]_i = K_D \frac{F - F_{\min}}{F_{\max} - F}$$

F: gemessene Fluoreszenz nach Beladen der Zelle mit Farbstoff

F_{max}: Fluoreszenz der mit Ca²⁺-gesättigten Probe (Erhalten durch Lyse der Zellen mit 1% Triton® X-100)

F_{min}: Fluoreszenz in Abwesenheit von Ca²⁺ (Vorherige Chelatisierung des Ca²⁺ mit 10 mM EDTA-Lösung)

K_D: Gleichgewichtsdissoziationskonstante des Farbstoffs bezogen auf Ca²⁺ (Für Oregon Green® 488 BAPTA-1 ergibt sich K_D = 170 nM [Haugland, 2001])

Über einen Fluoreszenz-Microplate-Reader gelang es nun durch Injektion eines Agonisten in steigender Konzentration (Versuchsdurchführung s. Kap. G.3) einen Anstieg der Fluoreszenz-Intensität zu messen, während dies durch einen Antagonisten, der keine Ca^{2+} -Ausschüttung bewirkt, nicht möglich war. So konnte also, im Gegensatz zu Radioligandbindungsexperimenten, funktionell zwischen Agonisten und Antagonisten unterschieden werden.

Je nach Versuchsanordnung (s. Kap. G.3) wurden die hier getesteten Substanzen auf antagonistische, als auch auf agonistische Aktivität hin überprüft.

Die Berechnung der K_i -Werte erfolgte wie in Kapitel C.1 bereits erläutert nach Cheng und Prusoff [Cheng, 1973] in leicht abgewandelter Form:

$$2. \quad K_i = \frac{IC_{50}}{1 + [L_{Ag}] / EC_{50}}$$

$[L_{Ag}]$ stellt die Endkonzentration des injizierten Agonisten dar, die hier anstelle der Radioligandkonzentration in die Gleichung eingesetzt wird. Ebenso wird der K_D -Wert durch den EC_{50} -Wert ersetzt.

Beachtet werden muss, das es sich hier um keinen K_i -Wert im klassischen Sinn handelt, da bei obiger Gleichung das Massenwirkungsgesetz Gültigkeit besitzen muss, d.h. es muss ein Gleichgewicht vorliegen, was unter den Bedingungen eines Calcium-Assays nicht möglich ist. Bei dem gemessenen Ca^{2+} -Anstieg handelt es sich um ein schnelles Signal, welches nach wenigen Sekunden wieder abklingt und so eine Gleichgewichtseinstellung verhindert. Somit ist ein Vergleich von funktionellen K_i -Werten (Calcium-Assay) mit denen die im Gleichgewicht vorliegen (Radioligandbindungsstudien) nur bedingt möglich.

C.3 Ergebnisse der Radioligandbindungsstudien und des Calcium-Assays

Im Folgenden werden die Ergebnisse der Radioligandbindungsexperimente sowie der Calcium-Fluoreszenz-Messungen tabellarisch vorgestellt (s. Kap. C.3.3). In einer kurzen Zusammenfassung soll voran auf beide Screening-Methoden anhand eines Beispiels eingegangen werden. Die theoretische Grundlage und die Durchführung der Radioligandbindungsstudien werden in den Kapiteln C.1 bzw. G.2, für den Calcium-Assay in den Kapiteln C.2 bzw. G.3, näher erläutert.

C.3.1 Ergebnisse der Radioligandbindungsstudien

In einem Schnellscreening wurde zunächst die prozentuale Abnahme der rezeptor-gebundenen Radioaktivität einer 10 μM Lösung der jeweiligen Testsubstanz an den

Dopamin-Rezeptorsubtypen ermittelt. Dazu wurde zusätzlich die unspezifische Bindung des Radioliganden durch eine 10 µM Fluphenazin- (D₁-Familie) bzw. 1 µM Haloperidollösung (D₂-Familie) bestimmt. Die Messung der Gesamtbindung erfolgte durch Zugabe der gleichen Menge Messpuffer anstelle der Testsubstanzlösung. Die spezifische Bindung des Radioliganden in Abwesenheit eines kompetitiven Inhibitors wird dann aus der Differenz der Gesamt- und der unspezifischen Bindung bestimmt (in dpm). Durch Subtraktion der unspezifischen Bindung von der durch Inkubation mit einer Testsubstanz verbliebenen Radioaktivität lässt sich die prozentuale Abnahme der spezifischen Bindung des Radioliganden berechnen. Bei Werten über 70% erfolgte die Bestimmung des K_i-Wertes nach dem in Kapitel G.2 beschriebenen Verfahren.

Durch Eingabe der Einzelmesswerte in die Software Graph Pad Prism® konnte anhand des Kurvenverlaufs der IC₅₀-Wert ermittelt werden, aus dem der jeweilige K_i-Wert nach Cheng und Prusoff [Cheng, 1973] errechnet wurde (s. auch Kap. C.1).

Die Konzentration des Radioliganden wurde separat vor jedem Versuch durch Bestimmung der Zählrate des Radioliganden nach Zugabe von Szintillationscocktail nach folgender Formel ermittelt:

$$[R] = \frac{\text{Kontrollwert (dpm)}}{2220 \times 0,55 \times A}$$

[R]: Konzentration des Radioliganden in nM

Kontrollwert: Zählrate in dpm

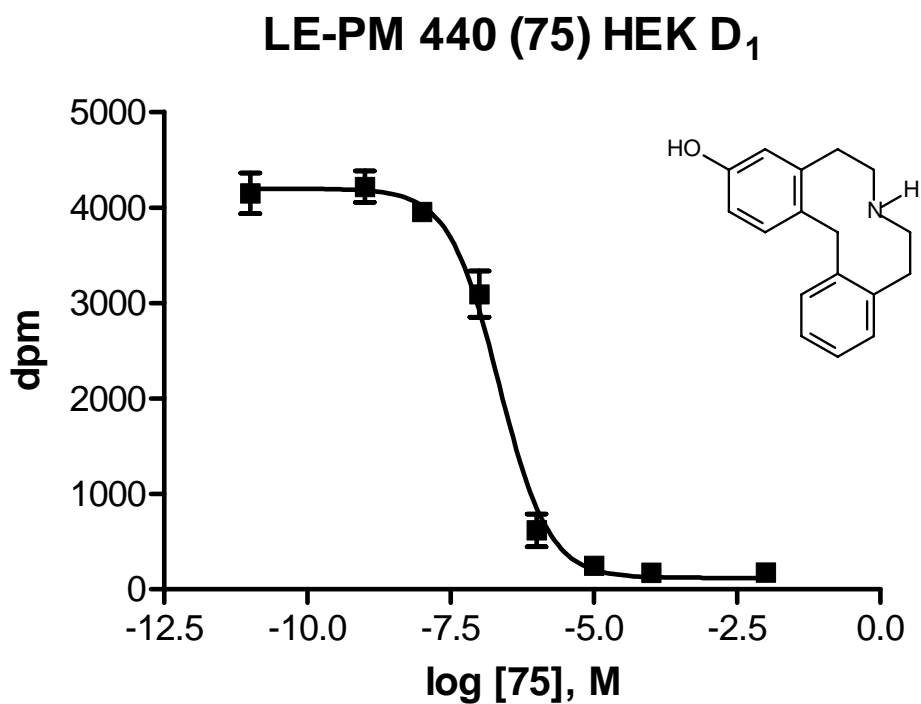
2220: Konstante

0,55: Volumen des Reaktionsansatzes in ml

A: spezifische Aktivität des Radioliganden

In Abb. C.3 ist exemplarisch der Kurvenverlauf der Substanz **75** dargestellt. Zusätzlich werden die Einzelmesswerte und die Berechnung im Modus „one site competition“ angegeben. Graph Pad Prism® ermittelt hierüber den EC₅₀- sowie den K_i-Wert und die Werte inklusiv Standardabweichung des oberen bzw. unteren Plateaus der Kurve und des 95% Konfidenzintervalls. So ergibt sich für diese Verbindung ein K_i-Wert von 111 nM.

Bei Ermittlung des K_i-Wertes von mehreren voneinander unabhängigen Versuchen wurde in der Tabelle C.3 der Mittelwert ± der mittleren Abweichung vom Mittelwert (MABW) angegeben. Bei mehr als zwei, voneinander unabhängigen Messungen wurde entsprechend der Mittelwert ± Standardabweichung (STABW) ermittelt.



log [75], M	dpm		
	Y1	Y2	Y3
-2	183	195	156
-4	195	153	165
-5	267	237	246
-6	762	282	813
-7	2625	3450	3195
-8	3954	3960	3940
-9	4323	4431	3891
-11	3855	4023	4560

One site competition	
Best-fit values	
BOTTOM	119.6
TOP	4195
LOGEC50	-6.658
EC50	2.1979e-007
KI	1.1136e-007
Ligand (Constant)	0.1850
Kd (Constant)	0.1900
Std. Error	
BOTTOM	80.96
TOP	86.01
LOGEC50	0.06975
95% Confidence Intervals	
BOTTOM	-48.79 to 288.0
TOP	4016 to 4374
LOGEC50	-6.803 to -6.513
EC50	1.5737e-007 to 3.0697e-007
KI	7.9736e-008 to 1.5553e-007
Goodness of Fit	
Degrees of Freedom	21
R ²	0.9841
Absolute Sum of Squares	1.2630e+006
Sy.x	245.2
Data	
Number of X values	8
Number of Y replicates	3
Total number of values	24
Number of missing values	0

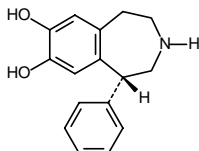
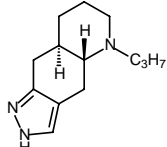
Abb. C.3: Ergebnisse des Radioligandbindungsexperimentes an HEK D₁-Rezeptoren am Beispiel der Verbindung **75**. Die Berechnung der gemessenen Werte erfolgte durch die Software Graph Pad Prism®.

C.3.2 Ergebnisse des Calcium-Assays

Durch Etablierung des Calcium-Assays in unserem Arbeitskreis [Höfgen, 2002] gelang es, ein radioaktivfreies Screening durchführen zu können, bei dem sowohl die antagonistische als auch die agonistische Aktivität der jeweiligen Testsubstanz bestimmt werden konnte.

Hierbei wird ein durch Anstieg der intrazellulären Ca^{2+} -Konzentration hervorgerufenen Fluoreszenz-Signal gemessen, aus dem in Abhängigkeit der Testsubstanzkonzentration ein Kurvenverlauf dargestellt werden kann, aus dem mit Hilfe der Software Graph Pad Prism® die EC_{50} - bzw. K_i -Werte ermittelt werden können.

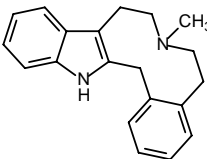
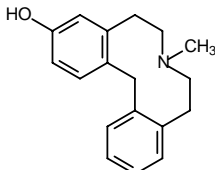
Da einige Versuchsbedingungen geändert werden mussten, z.B. das Ersetzen des Aqua dest. der Testsubstanzverdünnungsreihen durch Krebs-HEPES-Puffer, um zu nachvollziehbaren Werten zu gelangen, wurden die EC_{50} -Werte der Standard-Agonisten SKF 38393 und Quinpirol erneut bestimmt, und diese mit den aus der Literatur bekannten Werten verglichen. Tabelle C.1 zeigt eine gute Übereinstimmung der ermittelten Werte mit den durch Radioligandbindungsversuche erhaltenen K_i -Werte, die aber, wie bereits erwähnt (s. Kap. C.2), nur bedingt miteinander verglichen werden dürfen. Ebenfalls gute Übereinstimmung liefert der Vergleich mit den aus der Literatur bekannten Calcium-Assay-Daten [Kassack, 2002] [Höfgen, 2002]. Lediglich der hier ermittelte D_1 -Wert liegt tiefer, stimmt aber besser mit dem literaturbekannten K_i -Wert von 1 [Seeman, 1994] überein.

Strukturformel	Bezeichnung	EC_{50} -Wert [nM]	EC_{50} -Wert [nM] [Höfgen, 2002]	K_i -Wert [nM] [Seeman, 1994]
	SKF 38393	$\text{D}_1: 2.2 \pm 0.4$ $\text{D}_5: 1.9 \pm 0.5$	$\text{D}_1: 18.1$ $\text{D}_5: 2.7$	$\text{D}_1: 1$ $\text{D}_5: \sim 0.5$
	Quinpirol	$\text{D}_{2L}: 2.8 \pm 0.3$	$\text{D}_{2L}: 6.5$	$\text{D}_2: 4.8$

Tab. C.1: Vergleich der ermittelten EC_{50} -Werte (\pm MABW) mit Literaturwerten, die durch Calcium-Fluoreszenz-Messung und durch Radioligandbindungsexperimente erhalten wurden.

Des Weiteren wurden die K_i -Werte am D_1 -Rezeptor-Subtyp der schon bekannten Leitsubstanzen **LE 300** und **LE 404** bestimmt. Hier zeigten sich größere Unterschiede in den durch Calcium-Fluoreszenz-Messung ermittelten K_i -Werten der D_1 -Rezeptoren. Es konnte

aber eine bessere Korrelation mit den durch Radioligandbindungsstudien erhaltenen K_i -Werten festgestellt werden.

Strukturformel	Bezeichnung	K_i -Wert* [nM]	K_i -Wert* [nM]	K_i -Wert** [nM]
	LE 300	$D_1: 9.6 \pm 2.9$	$D_1: 60.4 \pm 20.4$ [Höfgen, 2002]	$D_1: 4.9 \pm 1.6$ [Decker, 2001]
	LE 404	$D_1: 1.35 \pm 0.25$	$D_1: 6.93 \pm 5.31$ [Höfgen, 2002]	$D_1: 0.39 \pm 0.22$

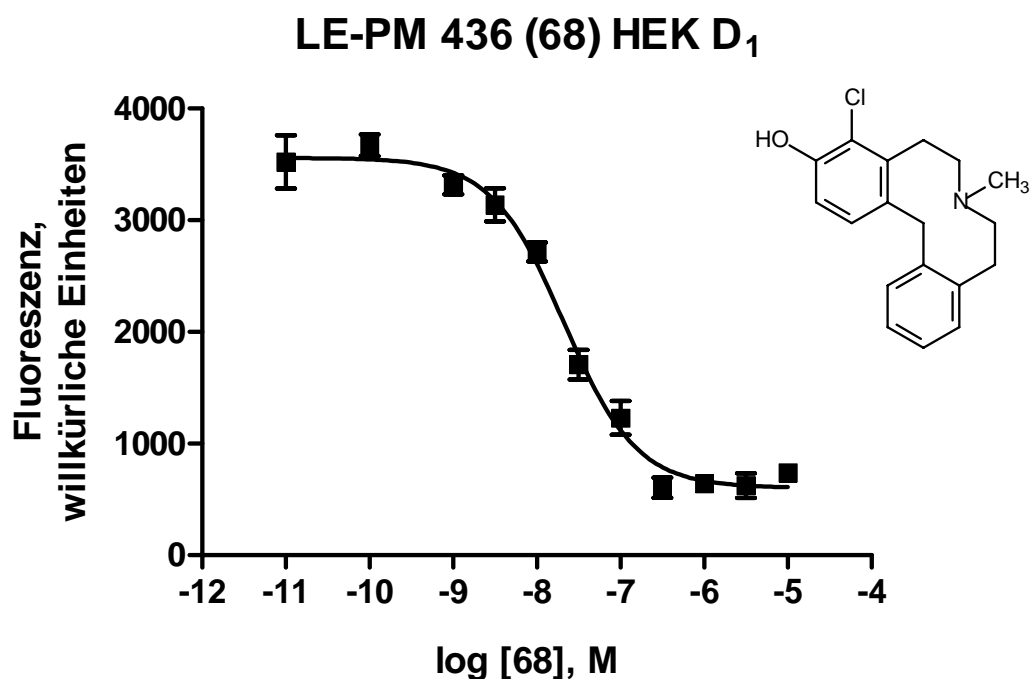
Tab. C.2: Vergleich der ermittelten K_i -Werte (\pm MABW) mit Literaturwerten, die ebenfalls durch Calcium-Fluoreszenz-Messung erhalten wurden.

* durch Calcium-Fluoreszenz-Messung erhaltene Daten

** durch Radioligandbindungsexperimente erhaltene Daten

In Abb. C.4 ist exemplarisch der Kurvenverlauf der Substanz **68** dargestellt. Wie in Kapitel C.3.1 bereits erläutert, werden die Einzelmesswerte und die Berechnung im Modus „one site competition“ angegeben. Graph Pad Prism[®] ermittelt hierüber den EC_{50} - sowie den K_i -Wert und die Werte inklusiv Standardabweichung des oberen bzw. unteren Plateaus der Kurve und des 95% Konfidenzintervalls. So ergibt sich für diese Verbindung ein K_i -Wert von 0.46 nM.

Bei Ermittlung des K_i -Wertes von mehreren voneinander unabhängigen Versuchen wurde in der Tabelle C.3 der Mittelwert \pm der mittleren Abweichung vom Mittelwert (MABW) angegeben. Bei mehr als zwei, voneinander unabhängigen Messungen wurde entsprechend der Mittelwert \pm Standardabweichung (STABW) ermittelt.

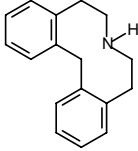
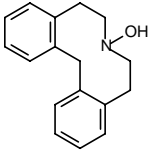
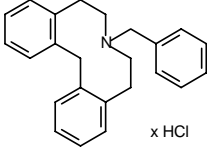
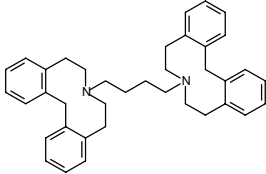
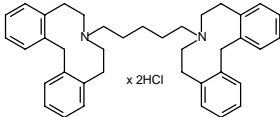
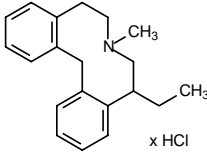
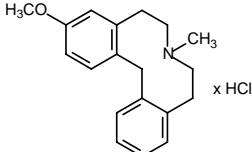


log [68], M	Fluoreszenz					
	Y1	Y2	Y3	Y4	Y5	Y6
-11.0	2560	3745	4234	3812	3622	3165
-10.0	3462	3785	3844	3452	3482	4001
-9.0	3125	3339	3521	3417	3490	3005
-8.5	2609	3223	3641	3298	2849	3218
-8.0	2644	2740	2705	3052	2407	2749
-7.5	1142	1812	1993	1953	1518	1828
-7.0	1204	1212	1553	1368	1511	531
-6.5	473	631	869	519	303	838
-6.0	826	719	690	723	365	532
-5.5	885	675	916	656	409	203
-5.0	793	987	639	743	705	564

One site competition	
Best-fit values	
BOTTOM	604.1
TOP	3559
LOGEC50	-7.674
EC50	2.1161e-008
KI	4.5552e-010
Ligand (Constant)	100.0
Kd (Constant)	2.200
Std. Error	
BOTTOM	65.07
TOP	70.89
LOGEC50	0.06506
95% Confidence Intervals	
BOTTOM	474.0 to 734.1
TOP	3418 to 3701
LOGEC50	-7.805 to -7.544
EC50	1.5685e-008 to 2.8549e-008
KI	3.3764e-010 to 6.1456e-010
Goodness of Fit	
Degrees of Freedom	63
R ²	0.9445
Absolute Sum of Squares	5.8143e+006
Sy.x	303.8
Data	
Number of X values	11
Number of Y replicates	6
Total number of values	66
Number of missing values	0

Abb. C.4: Ergebnisse der Calcium-Fluoreszenz-Messung an HEK D₁-Rezeptoren am Beispiel der Verbindung **68**. Die Berechnung der gemessenen Werte erfolgte durch die Software Graph Pad Prism®.

C.3.3 Tabellarische Übersicht der ermittelten K_i -Werte

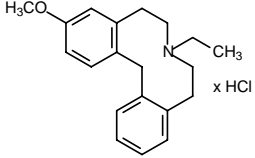
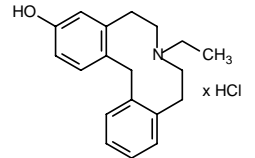
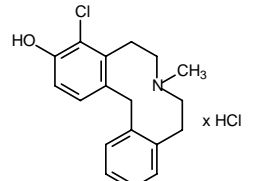
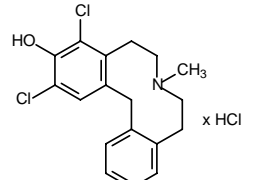
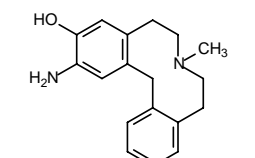
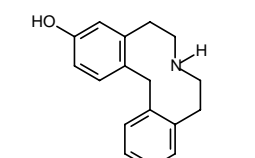
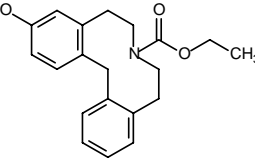
Strukturformel	Chiffre Dissertation [intern]	Radioligandbindungs- Studien		Calcium-Assay
		Abnahme* [%]	K_i -Werte ** [nM]	K_i -Werte** [nM]
	34 [LE-PM 432]	D ₁ : 96 D ₂ : n.b. D ₃ : 46	D ₁ : 2848 ± 519 D ₂ : 4843 ± 2577	D ₁ : >10 mM D ₂ : -
	40 [LE-PM 433]	D ₁ : 94 D ₂ : n.b.	D ₁ : 4378 ± 538 D ₂ : 58550	
	42 [LE-PM 435]	D ₁ : 84 D ₂ : n.b. D ₃ : 87	D ₁ : 544 ± 337 D ₂ : 263 ± 28 D ₃ : 23396 ± 5300	D ₁ : n.auswertbar D ₂ : n.auswertbar D ₃ : -
	46 [LE-PM 430]	D ₁ : 21 D ₂ : 57 D ₃ : 56	D ₁ : 52140*** D ₂ : 6357*** D ₃ : -	
	46a [LE-PM 431]	D ₁ : 70 D ₂ : 71 D ₃ : 86	D ₁ : 5700 ± 1596 D ₂ : 720 ± 128 D ₃ : 177 ± 47.5	
	52 [LE-PM 446]	D ₁ : 100 D ₂ : n.b.	D ₁ : 18.9 ± 1.1 D ₂ : 65 ± 7	D ₁ : 34.3 ± 1.2 D ₂ : 105.3 ± 57.6 ⁽¹⁾
	61 [LE-PM 425]	D ₁ : 94 D ₂ : 99 D ₃ : 95 D ₅ : n.b.	D ₁ : 28.5 ± 9.7*** D ₂ : 13 ± 9*** D ₃ : 75.7 ± 7.3 D ₅ : -	D ₁ : 24.1 ± 3.9 D ₂ : 0.55 ± 0.23 ⁽¹⁾ D ₃ : - D ₅ : 7.2 ± 3.8

Tab. C.3: Bindungsdaten der Dibenz[d,g]azecine

* Prozentuale Abnahme der rezeptor-gebundenen Radioaktivität (%) durch eine 10 µM Lösung

** ± MABW (mittlere Abweichung vom Mittelwert) oder ± STABW⁽¹⁾ (Standardabweichung)

*** gemessen von Dr. Thomas Wittig

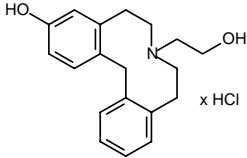
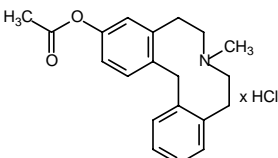
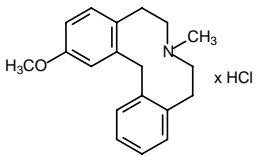
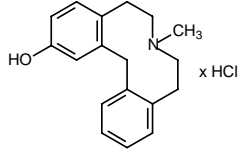
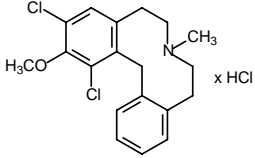
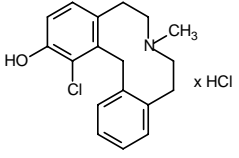
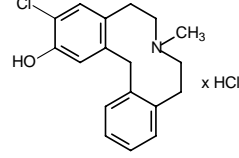
Strukturformel	Chiffre Dissertation [intern]	Radioligandbindungs- Studien		Calcium-Assay
		Abnahme* [%]	K _i -Werte ** [nM]	K _i -Werte** [nM]
	66 [LE-PM 427]	D ₁ : 99 D ₂ : n.b.	D ₁ : 33 ± 2 D ₂ : 11.7 ± 1.3	D ₁ : 281 ± 4 D ₂ : 4.4 ± 2.9
	67 [LE-PM 426]	D ₁ : 90 D ₂ : n.b. D ₃ : 100 D ₅ : n.b.	D ₁ : 3.8 ± 0.8 D ₂ : 80.5 ± 29 ⁽¹⁾ D ₃ : 140.5 ± 4.5 D ₅ : 7.1 ± 2.4	D ₁ : 10.7 ± 0.7 D ₂ : 30 ± 5.3 D ₃ : - D ₅ : 7.0 ± 1.2 ⁽¹⁾
	68 [LE-PM 436]	D ₁ : 98 D ₂ : n.b. D ₃ : 97 D ₅ : n.b.	D ₁ : 0.83 ± 0.15 ⁽¹⁾ D ₂ : 4 ± 1.9 D ₃ : 24.6 ± 6.4 ⁽¹⁾ D ₅ : 0.057 ± 0.06 ⁽¹⁾	D ₁ : 0.46 ± 0.36 ⁽¹⁾ D ₂ : 6.1 ± 4.8 ⁽¹⁾ D ₃ : - D ₅ : 0.053 ± 0.02 ⁽¹⁾
	69 [LE-PM 442]	D ₁ : 100 D ₂ : n.b. D ₅ : n.b.	D ₁ : 3.2 ± 0.6 D ₂ : 88 ± 21 D ₅ : -	D ₁ : 3.8 ± 1.4 ⁽¹⁾ D ₂ : 37.5 ± 12 D ₅ : 1.2 ± 0.7
	73 [LE-PM 443]	D ₁ : 100 D ₂ : n.b.	D ₁ : 9.3 ± 3.3 D ₂ : 37.3 ± 10.8	D ₁ : 20.9 ± 9.5 D ₂ : 26.1 ± 1.0
	75 [LE-PM 440]	D ₁ : 92 D ₂ : n.b. D ₃ : 58 D ₅ : n.b.	D ₁ : 68.2 ± 32.8 ⁽¹⁾ D ₂ : 388.5 ± 19.5 D ₃ : - D ₅ : -	D ₁ : 245 ± 118 D ₂ : 362 ± 24 ⁽¹⁾ D ₃ : - D ₅ : 44.3 ± 16.1
	76 [LE-PM 455]	D ₁ : 0 D ₂ : 0 D ₃ : 8 D ₅ : -		D ₁ : 887 ± 61 D ₂ : n. auswertbar D ₃ : - D ₅ : 181

Tab. C.3: Bindungsdaten der Dibenz[*d,g*]azecine

* Prozentuale Abnahme der rezeptor-gebundenen Radioaktivität (%) durch eine 10 µM Lösung

** ± MABW (mittlere Abweichung vom Mittelwert) oder ± STABW⁽¹⁾ (Standardabweichung)

*** gemessen von Dr. Thomas Wittig

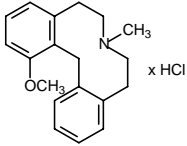
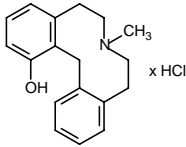
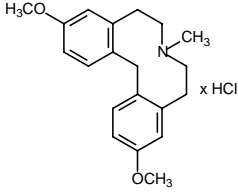
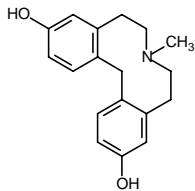
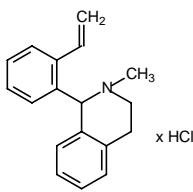
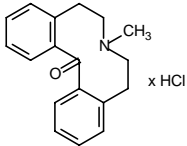
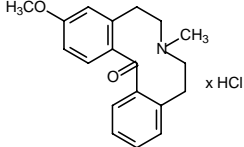
Strukturformel	Chiffre Dissertation [intern]	Radioligandbindungs- Studien		Calcium-Assay
		Abnahme* [%]	K _i -Werte ** [nM]	K _i -Werte** [nM]
	78 [LE-PM 437]	D ₁ : 100 D ₂ : n.b. D ₅ : n.b.	D ₁ : 41 ± 7 D ₂ : 446.5 ± 33.5 D ₅ : -	D ₁ : 309 ± 122 D ₂ : 31 ± 16 D ₅ : 61.3
	79 [LE-PM 447]	D ₁ : 100 D ₂ : n.b.	D ₁ : 0.45 ± 0.07 D ₂ : 27.6 ± 17.4 ⁽¹⁾	D ₁ : 1.3 ± 1.6 D ₂ : 3.7 ± 1.2
	90 [LE-PM 429]	D ₁ : 91 D ₂ : 94 D ₃ : 95	D ₁ : 82 ± 30*** D ₂ : 62 ± 5*** D ₃ : 150.5 ± 57.5	D ₁ : 567 ± 70 D ₂ : 21.1 ± 2.5 D ₃ : -
	91 [LE-PM 428]	D ₁ : 99 D ₂ : n.b. D ₃ : 100 D ₅ : 100	D ₁ : 8.9 ± 0.8 D ₂ : 36.9 ± 27.8 ⁽¹⁾ D ₃ : 236 D ₅ : 51.7 ± 21.7 ⁽¹⁾	D ₁ : 76.5 ± 16.5 D ₂ : 2.6 ± 0.6 D ₃ : - D ₅ : -
	98 [LE-PM 434]	D ₁ : 99 D ₂ : n.b. D ₃ : 97 D ₅ : n.b.	D ₁ : 25.3 ± 5 D ₂ : 210 ± 133 D ₃ : 415 ± 138 D ₅ : -	D ₁ : 34 ± 27 D ₂ : 2.5 ± 0.8 D ₃ : - D ₅ : 59 ± 47
	99 [LE-PM 452]	D ₁ : n.b. D ₂ : n.b. D ₅ : n.b.	D ₁ : 0.46 ± 0.22 ⁽¹⁾ D ₂ : 0.99 ± 0.02 D ₅ : -	D ₁ : 6.8 ± 4.9 ⁽¹⁾ D ₂ : 0.13 ± 0.06 ⁽¹⁾ D ₅ : 1.6 ± 0.7 ⁽¹⁾
	100 [LE-PM 454]	D ₁ : n.b. D ₂ : n.b. D ₅ : n.b.	D ₁ : 3.1 ± 1.7 ⁽¹⁾ D ₂ : 2.0 ± 0.5 D ₅ : -	D ₁ : 10.8 ± 9.2 ⁽¹⁾ D ₂ : 4.8 ± 2.5 D ₅ : 3.1 ± 0.7

Tab. C.3: Bindungsdaten der Dibenz[d,g]azecine

* Prozentuale Abnahme der rezeptor-gebundenen Radioaktivität (%) durch eine 10 µM Lösung

** ± MABW (mittlere Abweichung vom Mittelwert) oder ± STABW⁽¹⁾ (Standardabweichung)

*** gemessen von Dr. Thomas Wittig

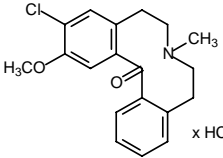
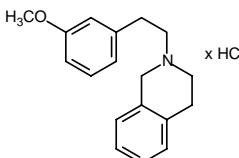
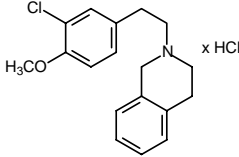
Strukturformel	Chiffre Dissertation [intern]	Radioligandbindungs- Studien		Calcium-Assay
		Abnahme* [%]	K _i -Werte ** [nM]	K _i -Werte** [nM]
	111 [LE-PM 448]	D ₁ : 100 D ₂ : n.b.	D ₁ : 7.6 ± 1.5 D ₂ : 164 ± 12	D ₁ : 37.6 ± 1.2 D ₂ : 39.9 ± 38.0 ⁽¹⁾
	112 [LE-PM 449]	D ₁ : 98 D ₂ : n.b.	D ₁ : 8.7 ± 2.0 D ₂ : 84 ± 3	D ₁ : 64.1 ± 19.5 D ₂ : 7.9 ± 0.3
	122 [LE-PM 453]	D ₁ : n.b. D ₂ : n.b. D ₅ : n.b.	D ₁ : 9.4 ± 1.0 D ₂ : 6.5 ± 0.2 D ₅ : -	D ₁ : 26.9 ± 11.4 D ₂ : 0.62 ± 0.34 ⁽¹⁾ D ₅ : 11.5 ± 7.5 ⁽¹⁾
	123 [LE-PM 451]	D ₁ : n.b. D ₂ : n.b. D ₅ : n.b.	D ₁ : 2.0 ± 1.2 ⁽¹⁾ D ₂ : 58.7 ± 11.7 ⁽¹⁾ D ₅ : -	D ₁ : 3.3 ± 0.1 D ₂ : 19.0 ± 10.5 ⁽¹⁾ D ₅ : 0.54 ± 0.36 ⁽¹⁾
	125 [LE-PM 450]	D ₁ : 38 D ₂ : 0		
	124 [LE-PM 439]	D ₁ : 15 D ₂ : 0 D ₃ : 0		
	129 [LE-PM 441]	D ₁ : 44 D ₂ : 0		

Tab. C.3: Bindungsdaten der Dibenz[d,g]azecine

* Prozentuale Abnahme der rezeptor-gebundenen Radioaktivität (%) durch eine 10 µM Lösung

** ± MABW (mittlere Abweichung vom Mittelwert) oder ± STABW⁽¹⁾ (Standardabweichung)

*** gemessen von Dr. Thomas Wittig

Strukturformel	Chiffre Dissertation [intern]	Radioligandbindungs- Studien		Calcium-Assay
		Abnahme* [%]	K _i -Werte ** [nM]	K _i -Werte** [nM]
	104 [LE-PM 438]	D ₁ : 0 D ₂ : 0 D ₃ : 8 D ₅ : -		D ₁ : > 40000 D ₂ : - D ₃ : - D ₅ : 24800
	139 [LE-PM 444]	D ₁ : 96 D ₂ : n.b.	D ₁ : 365 ± 27 D ₂ : 829	D ₁ : 916 ± 77 D ₂ : 332 ± 218
	141 [LE-PM 445]	D ₁ : 51 D ₂ : 68	D ₁ : - D ₂ : -	D ₁ : 798 D ₂ : 66 ± 30

Tab. C.3: Bindungsdaten der Dibenz[*d,g*]azecine

* Prozentuale Abnahme der rezeptor-gebundenen Radioaktivität (%) durch eine 10 µM Lösung

** ± MABW (mittlere Abweichung vom Mittelwert) oder ± STABW⁽¹⁾ (Standardabweichung)

*** gemessen von Dr. Thomas Wittig

D. Diskussion

Die durch Radioligandbindungsexperimente und Calcium-Fluoreszenz-Messungen gewonnenen Daten (s. Tab. C.3, Kap. C.3.3) sollen dazu dienen, Struktur-Wirkungs-Beziehungen zu erkennen. Hierzu sollten die schon früher von Schweikert [Schweikert, 1999] synthetisierten und von Decker [Decker, 2001] in Radioligandbindungsstudien bzw. von Höfgen [Höfgen, 2002] im Calcium-Assay vermessenen Dibenz[*d,g*]azecine mit einbezogen werden.

Ein Vergleich zwischen den in Radioligandbindungsstudien und durch Calcium-Fluoreszenz-Messungen erhaltenen K_i -Werten ist dabei nur mit Einschränkung möglich, da die im Calcium-Assay erhaltenen funktionellen K_i -Werte nicht in Gleichgewichtsexperimenten gewonnen werden können, wie dies in Radioligandbindungsstudien der Fall ist (s. Kap. C.2). Messungen an den D_1 - bzw. D_2 -Rezeptor-Subtypen zeigten in den beiden Assays teilweise Unterschiede in den erhaltenen Werten um den Faktor 10. Besonders interessant erscheint hier der Umstand, dass am D_1 -Rezeptor in Radioligandbindungsstudien tendenziell kleinere K_i -Werte gefunden werden, als durch Calcium-Fluoreszenz-Messungen, während sich am D_2 -Rezeptor dieses Verhältnis umkehrt. Dies kann in einigen Fällen zu einer Umkehr der Selektivität zu einem Rezeptorsubtyp führen. Warum dieses Phänomen auftritt, konnte nicht eindeutig geklärt werden. Neben den oben erläuterten Unterschieden in der Methodik der beiden Verfahren, wurden darüber hinaus in Radioligandbindungstudien HEK- D_1 - und CHO- D_2 -Zelllinien eingesetzt, während im Calcium-Assay HEK- D_1 - und HEK- D_2 -Zelllinien zur Anwendung kamen. Diese Unterschiede in den Affinitäten wurden ebenfalls bei den Radioligandbindungstudien von Decker [Decker, 2001] und in den Calcium-Assay-Daten von Höfgen [Höfgen, 2002] gefunden, die die jeweils gleichen Zelllinien (HEK- D_1 /CHO- D_2 bzw. HEK- D_1 /HEK- D_2) verwendeten. Dies wäre eine Erklärung für die Differenz der ermittelten Daten.

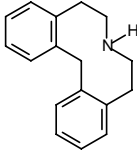
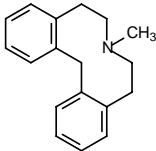
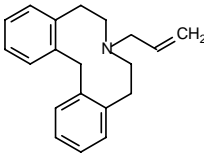
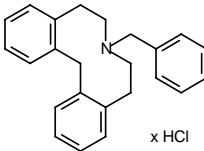
Um trotzdem Aussagen über Selektivitäten treffen zu können, wird im Folgenden vermehrt auf die Daten aus den Radioligandbindungsexperimenten eingegangen.

Bei den in dieser Arbeit synthetisierten Dibenz[*d,g*]azecin-Derivaten handelt es sich durchweg um dopaminantagonistische Liganden. Einige wenige Verbindungen, wie die Azecine **69** (LE-PM 442), **111** (LE-PM 448), **112** (LE-PM 449), sowie die N-Phenylethyl-tetrahydroisochinoline **139** (LE-PM 444) und **141** (LE-PM 445), zeigten im Calcium-Assay agonistische Aktivität an HEK- D_1 -exprimierenden Zellen, die aber durch Vergleichsmessungen mit den entsprechenden Wildtypzellen ebenfalls einen Agonismus erkennen liessen (s. Kap. G.3.2.3.2). Das bedeutet, dass eine durch diese Verbindungen hervorgerufene Ca^{2+} -Ausschüttung in den Wildtypzellen nicht über den Dopaminrezeptor

vermittelt wurde (da dieser dort nicht exprimiert wird!), und so ein anderer Mechanismus, z.B. durch Blockade bzw. Stimulierung anderer Rezeptoren, für den Ca^{2+} -Efflux verantwortlich sein muss.

D.1 Abhängigkeit der Bindungseigenschaften von der Länge der N-Substitution aromatisch unsubstituierter Dibenz[*d,g*]azecine

Bei den Dibenz[*d,g*]azecinen, die am Aromaten keinen Substituenten aufweisen, hängen die Bindungseigenschaften stark von der Größe des Substituenten am Stickstoff ab. Tabelle C.4 zeigt, dass das Optimum der Affinität zum Dopamin-Rezeptor bei N-Methyl-Substitution liegt (**LE 410 (44)**), wohingegen eine „Verkleinerung“ des Substituenten zur „NH-Verbindung“ **34** zum drastischen Affinitätsverlust führt.

Strukturformel	Chiffre Dissertation [intern]	Radioligandbindungs- Studien		Calcium-Assay
		Abnahme* [%]	K _i -Werte ** [nM]	K _i -Werte** [nM]
	34 [LE-PM 432]	D ₁ : 96 D ₂ : n.b. D ₃ : 46	D ₁ : 2848 ± 519 D ₂ : 4843 ± 2577	D ₁ : >10 mM D ₂ : -
	LE 410 (44)*** [Schweikert, 1999]	D ₁ : 97 D ₂ : 98 D ₄ : 93 D ₅ : 91	D ₁ : 4.5 ± 2.9 D ₂ : 56.5 ± 12.5 D ₄ : 133.5 ± 18.5 D ₅ : 11.2 ± 1.8	D ₁ : 40.4 ± 4.84 D ₂ : 8.47 ± 4.32 D ₄ : - D ₅ : 3.09 ± 3
	LE 411*** [Schweikert, 1999]	D ₁ : 83 D ₂ : 53 D ₄ : 39 D ₅ : 87	D ₁ : 603 D ₂ : - D ₄ : - D ₅ : 538	
	42 [LE-PM 435]	D ₁ : 84 D ₂ : n.b. D ₃ : 87	D ₁ : 544 ± 337 D ₂ : 263 ± 28 D ₃ : 23396 ± 5300	D ₁ : n.auswertbar D ₂ : n.auswertbar D ₃ : -

Tab. C.4: Bindungsdaten aromatisch unsubstituierter Dibenz[*d,g*]azecine

* Prozentuale Abnahme der rezeptor-gebundenen Radioaktivität (%) durch eine 10 µM Lösung

** ± MABW (mittlere Abweichung vom Mittelwert) oder ± STABW⁽¹⁾ (Standardabweichung)

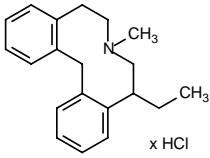
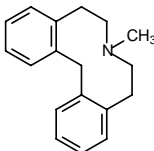
*** Radioligandbindungsdaten aus [Decker, 2001]; Calcium-Assay-Daten aus [Höfgen, 2002]

Ersatz von Methyl durch Allyl (**LE 411**) oder Benzyl (**42**) führt ebenfalls zu einer Verminderung der Affinität. Bei **42** zeigt sich interessanterweise eine 1000fache Subtypselektivität zwischen dem D₂- und dem D₃-Rezeptor. Weitere Messungen müssen zeigen, ob dies auch bei den anderen unsubstituierten Dibenz[*d,g*]azecinen zu beobachten sein wird. Das **LE 410** als einzige hochaffine Substanz besitzt eine leichte D₁/D₅-Selektivität.

- Die Einführung einer N-Methyl-Gruppe an Dibenz[*d,g*]azecine führt zu einem Affinitätsoptimum an den Dopaminrezeptoren. Verkleinerung bzw. Vergrößerung des N-Substituenten senkt diese Affinität.

D.2 Einfluss einer Alkylseitenkette am Azecinring von Dibenz[*d,g*]azecinen auf die Bindungseigenschaften an den Dopaminrezeptor-Subtypen

Vergleicht man die Radioligandbindungsdaten der Substanz **52** mit den von **LE 410**, erkennt man, dass die Einführung einer Ethylseitenkette keinen großen Einfluss bezüglich der Affinität zum D₁- und D₂-Rezeptor besitzt. Am D₁-Rezeptor kommt es zu einem geringen Affinitätsverlust um den Faktor 4 bei gleichbleibender D₂-Affinität. Allerdings nimmt die Selektivität von **52** zur D₁-Familie ab. Dies lässt sich auch an den durch Calcium-Fluoreszenz-Messung erhaltenen K_i-Werten beobachten, wohingegen sich die Selektivität zugunsten des D₂-Rezeptors umkehrt.

Strukturformel	Chiffre Dissertation [intern]	Radioligandbindungs- Studien		Calcium-Assay
		Abnahme* [%]	K _i -Werte ** [nM]	K _i -Werte** [nM]
	52 [LE-PM 446]	D ₁ : 100 D ₂ : n.b.	D ₁ : 18.9 ± 1.1 D ₂ : 65 ± 7	D ₁ : 34.3 ± 1.2 D ₂ : 105.3 ± 57.6 ⁽¹⁾
	LE 410 (44) *** [Schweikert, 1999]	D ₁ : 97 D ₂ : 98 D ₄ : 93 D ₅ : 91	D ₁ : 4.5 ± 2.9 D ₂ : 56.5 ± 12.5 D ₄ : 133.5 ± 18.5 D ₅ : 11.2 ± 1.8	D ₁ : 40.4 ± 4.84 D ₂ : 8.47 ± 4.32 D ₄ : - D ₅ : 3.09 ± 3

Tab. C.5: Bindungsdaten aromatisch unsubstituierter Dibenz[*d,g*]azecine

* Prozentuale Abnahme der rezeptor-gebundenen Radioaktivität (%) durch eine 10 µM Lösung

** ± MABW (mittlere Abweichung vom Mittelwert) oder ± STABW⁽¹⁾ (Standardabweichung)

*** Radioligandbindungsdaten aus [Decker, 2001]; Calcium-Assay-Daten aus [Höfgen, 2002]

- Einführung einer Ethylseitenkette an den Azecinring des Dibenz[d,g]azecins **52** führt zu einem leichten Selektivitäts- und Affinitätsverlust.

D.3 Bindungseigenschaften dimerer Dibenz[d,g]azecine in Abhängigkeit der Länge ihrer Alkylseitenketten

Wie aus der Literatur bekannt [Abadi, 2002], konnte durch Dimerisierung des Benzindolozecins **LE 300** mit unterschiedlich langen Alkylketten (zwischen drei und sieben Methylengruppen) Affinitäten an den Dopaminrezeptor-Subtypen in unterschiedlichen Maße erhalten werden. Das dimere **LE 300** mit einer Spacerlänge von sechs Methylengruppen erreichte dabei die höchste Affinität mit K_i -Werten am D_1 -Rezeptor von 44 nM und am D_2 -Rezeptor von 57.8 nM. Ausgehend von dieser Verbindung sank die Affinität mit abnehmender und zunehmender Spacerlänge.

Strukturformel	Chiffre Dissertation [intern]	Radioligandbindungs- Studien		Calcium- Assay
		Abnahme* [%]	K_i -Werte ** [nM]	K_i -Werte** [nM]
	46*** [LE-PM 430]	D_1 : 21 D_2 : 57 D_3 : 56	D_1 : 52140 D_2 : 6357 D_3 : -	
	46a [LE-PM 431]	D_1 : 70 D_2 : 71 D_3 : 86	D_1 : 5700 ± 1596 D_2 : 720 ± 128 D_3 : 177 ± 47.5	
	LE-WW 463*** [Wittig, 2004]	D_1 : 73 D_2 : 62	D_1 : 5383 D_2 : 795	
	LE-WW-464*** [Wittig, 2004]	D_1 : 48 D_2 : 56	D_1 : 5956 D_2 : 2219	

Tab. C.6: Bindungsdaten dimerer Dibenz[d,g]azecine

* Prozentuale Abnahme der rezeptor-gebundenen Radioaktivität (%) durch eine 10 μ M Lösung

** ± MABW (mittlere Abweichung vom Mittelwert) oder ± STABW⁽¹⁾ (Standardabweichung)

*** Radioligandbindungsdaten aus [Wittig, 2004]

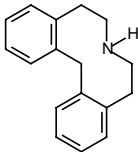
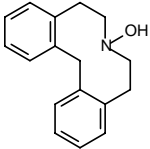
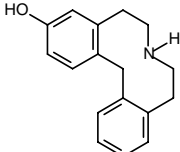
Das trotz der Größe des Moleküls solche Bindungseigenschaften beobachtet werden können, lässt sich an einer gleichzeitigen Bindung der Liganden über zwei Rezeptoren erklären [Halazy, 1999].

Ähnlich verhalten sich die dimeren Verbindungen von **LE 410**. Allerdings ist hier die Abhängigkeit der Spacerlänge weit weniger ausgeprägt. So besitzt Verbindung **46** nur einen K_i -Wert am D_1 -Rezeptor von ca. 50000 nM, der auf Werte von knapp unter 6000 nM bei den Dimeren **46a**, **LE-WW 463** und **LE-WW 464** fällt. Dagegen verfügen diese Dimere über eine ausgeprägtere D_2 -Selektivität (ca. 1:8). Am D_2 -Rezeptor wird ein Maximum an Affinität bei den Substanzen **46a** und **LE-WW 463** mit einer Spacerlänge von fünf bzw. sechs Methylengruppen erreicht (K_i ~750 nM), während die Affinität mit ab- und zunehmender Spacerlänge schwächer wird. Ebenfalls interessant erscheint die weitere Affinitätssteigerung am D_3 -Rezeptor der Substanz **46a**, mit K_i -Werten von 177 nM. Dies entspricht einer vierfachen Selektivitätssteigerung gegenüber dem D_2 - und einer 32fachen Steigerung gegenüber dem D_1 -Rezeptor-Subtyp. Ob dies bei den anderen Dimeren ebenfalls zu beobachten ist, muss noch geklärt werden.

- *Bivalente Dibenz[d,g]azecine zeigen eine deutlich schwächere Affinität zum D_1 - und D_2 -Rezeptor als die analogen Benzindoloazecine. Eine Abhängigkeit der Spacerlänge von der Affinität zum D_1 -Rezeptor ist weniger ausgeprägt, mit einem Minimum bei einer Kettenlänge von drei Methylengruppen. Dagegen liegt das Maximum an Affinität zum D_2 -Rezeptor bei einer Kettenlänge von fünf und sechs Methylengruppen. Bivalente Dibenz[d,g]azecine besitzen eine Selektivität zum D_3 - gegenüber dem D_1 - und D_2 -Rezeptor.*

D.4 Vergleich von Dibenz[d,g]azecinen ohne N-Alkylrest

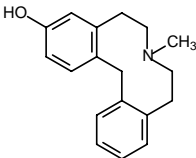
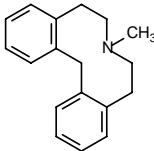
Mit der Synthese von „NH- bzw. NOH-Verbindungen“ (s. Tab. C.7) erhoffte man sich Dopaminrezeptor-Agonisten zu erhalten, was sich aber nicht bestätigte. Stattdessen sind beide unsubstituierten Dibenz[d,g]azecine **34** und **40** mäßig affine Antagonisten am Dopaminrezeptor mit K_i -Werten zwischen 3000 und 5000 nM. Hydroxyliert man in 3-Position, so erfolgt eine 40fache Affinitätssteigerung am D_1 -Rezeptor und eine 12fache am D_2 -Rezeptor. Dies konnte Decker [Decker, 2001] für das monohydroxylierte Dibenz[d,g]azecine **LE 404** im Vergleich zum unsubstituierten **LE 410** ebenfalls feststellen, wenn auch „nur“ mit einer 11fachen Affinitätssteigerung am D_1 -Rezeptor (s. Tab. C.8). Des Weiteren ist durch Einführung einer Hydroxy-Gruppe bei Verbindung **75** eine geringe D_1/D_2 -Selektivität im Verhältnis von ca. 1:5 festzustellen, die bei Verbindung **34** nur 1:1,7 beträgt.

Strukturformel	Chiffre Dissertation [intern]	Radioligandbindungs- Studien		Calcium-Assay
		Abnahme* [%]	K _i -Werte ** [nM]	K _i -Werte** [nM]
	34 [LE-PM 432]	D ₁ : 96 D ₂ : n.b. D ₃ : 46	D ₁ : 2848 ± 519 D ₂ : 4843 ± 2577	D ₁ : >10 mM D ₂ : -
	40 [LE-PM 433]	D ₁ : 94 D ₂ : n.b.	D ₁ : 4378 ± 538 D ₂ : 5855	
	75 [LE-PM 440]	D ₁ : 92 D ₂ : n.b. D ₃ : 58 D ₅ : n.b.	D ₁ : 68.2 ± 32.8 ⁽¹⁾ D ₂ : 388.5 ± 19.5 D ₃ : - D ₅ : -	D ₁ : 245 ± 118 D ₂ : 362 ± 24 ⁽¹⁾ D ₃ : - D ₅ : 44.3 ± 16.1

Tab. C.7: Bindungsdaten von NH- und NOH-substituierten Dibenz[d,g]azecinen

* Prozentuale Abnahme der rezeptor-gebundenen Radioaktivität (%) durch eine 10 µM Lösung

** ± MABW (mittlere Abweichung vom Mittelwert) oder ± STABW⁽¹⁾ (Standardabweichung)

Strukturformel	Chiffre Dissertation [intern]	Radioligandbindungs- Studien		Calcium-Assay
		Abnahme* [%]	K _i -Werte ** [nM]	K _i -Werte** [nM]
	LE 404 (62) [Schweikert, 1999]	D ₁ : 99 D ₂ : 98 D ₃ : n.b. D ₄ : 98 D ₅ : 97	D ₁ : 0.39 ± 0.22 D ₂ : 17.5 ± 1.5*** D ₃ : 47.5 ± 24 D ₄ : 11.3 ± 0.7*** D ₅ : 1.5 ± 0***	D ₁ : 1.35 ± 0.25 D ₂ : 33.5 ± 17.0*** D ₃ : - D ₄ : - D ₅ : 1.69 ± 1.94***
	LE 410 (44)*** [Schweikert, 1999]	D ₁ : 97 D ₂ : 98 D ₄ : 93 D ₅ : 91	D ₁ : 4.5 ± 2.9 D ₂ : 56.5 ± 12.5 D ₄ : 133.5 ± 18.5 D ₅ : 11.2 ± 1.8	D ₁ : 40.4 ± 4.84 D ₂ : 8.47 ± 4.32 D ₄ : - D ₅ : 3.09 ± 3

Tab. C.8: Bindungsdaten von LE 404 im Vergleich mit LE 410

* Prozentuale Abnahme der rezeptor-gebundenen Radioaktivität (%) durch eine 10 µM Lösung

** ± MABW (mittlere Abweichung vom Mittelwert) oder ± STABW⁽¹⁾ (Standardabweichung)

*** Radioligandbindungsdaten aus [Decker, 2001]; Calcium-Assay-Daten aus [Höfgen, 2002]

In den Calcium-Assay-Daten des Azecins **75**, die schlechtere K_i -Werte am D_1 -Rezeptor liefern, zeigt sich eine D_1/D_5 -Selektivität im Verhältnis von 1:5.

- *Hydroxylierung der aromatischen 3-Stellung steigert die Affinität, mit einer leichten D_1 -Selektivität gegenüber dem D_2 -Rezeptor. „NH- bzw. NOH-Verbindungen“ zeigen keine agonistische Aktivität und sind nur mäßig affin.*

D.5 Abhängigkeit der Bindungseigenschaften 3-hydroxylierter Dibenz[*d,g*]azecine von der Länge und Polarität der N-Substitution

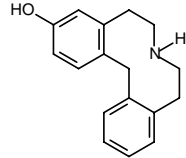
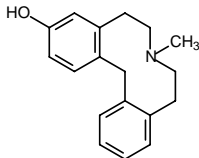
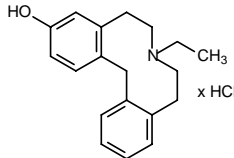
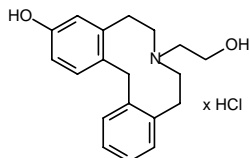
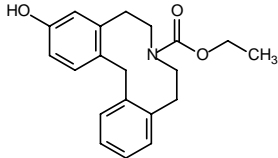
Wie in Kapitel D.1 (s. Tab. C.4) für aromatisch unsubstituierte Dibenz[*d,g*]azecine bereits gezeigt werden konnte, scheint die Affinität zu den Dopaminrezeptor-Subtypen stark von der Größe des Substituenten am Stickstoff abzuhängen, wobei die höchste Affinität mit einer N-Methyl-Gruppe erreicht wird. Auch Decker [Decker, 2001] konnte dies für einige substituierte und unsubstituierte Dibenz[*d,g*]azecine zeigen.

Tabelle C.9 zeigt, dass dieser Effekt auch bei den hydroxylierten Azecinen auftritt. Das Affinitätsmaximum hat die N-Methyl-Verbindung **LE 404**. Vergleicht man **LE 404** mit der „NH-Verbindung“ **75**, besteht eine 170fache Affinitätssteigerung am D_1 - und eine 20fache Steigerung am D_2 -Rezeptor. Ähnlich ist die Situation bei den Calcium-Assay-Daten, auch wenn dort insgesamt niedrigere Affinitäten am D_1 -Rezeptor gemessen wurden. Ersetzt man Methyl in **LE 404** durch Ethyl (**67**), so führt dies schon zu einem 10fachen Affinitätsverlust am D_1 - und einem ca. 4fachen am D_2 - und D_5 -Rezeptor. Ersetzen der N-Ethyl- durch eine Hydroxyethyl-Gruppe (**78**) führt dann nochmals zu einer ca. 10fachen Verschlechterung der D_1 -Affinität, während die Urethan-Gruppe (**76**) die Affinität nahezu beseitigt.

Generell senken auch polare Gruppen die Affinität. Weder die N-OH-Verbindung **40** (s. Tab. C.7), noch die Azecine **76** und **78** sind hochaffine Liganden.

So scheint eine Bindung an den Rezeptor durch die N-Alkyl-Gruppe über hydrophobe Wechselwirkungen zu erfolgen, und die „Bindungstasche“ des Rezeptors eine hohe Affinität zu kleinen (Methyl) und unpolaren Resten zu haben.

- *Bei hydroxylierten Dibenz[*d,g*]azecinen wird die höchste Affinität bei den N-Methyl-Derivaten erreicht. Vergrößerung und Verkleinerung des Substituenten führt zur Affinitätsverschlechterung. Ebenso scheinen an dieser Position hydrophobe Wechselwirkungen zum Rezeptor vorzuliegen, so dass unpolare Substituenten von Vorteil sind. Einen Einfluss auf die Selektivität lässt sich nicht beobachten.*
-

Strukturformel	Chiffre Dissertation [intern]	Radioligandbindungs- Studien		Calcium-Assay
		Abnahme* [%]	K _i -Werte ** [nM]	K _i -Werte** [nM]
	75 [LE-PM 440]	D ₁ : 92 D ₂ : n.b. D ₃ : 58 D ₅ : n.b.	D ₁ : 68.2 ± 32.8 ⁽¹⁾ D ₂ : 388.5 ± 19.5 D ₃ : - D ₅ : -	D ₁ : 245 ± 118 D ₂ : 362 ± 24 ⁽¹⁾ D ₃ : - D ₅ : 44.3 ± 16.1
	LE 404 (62) [Schweikert, 1999]	D ₁ : 99 D ₂ : 98 D ₃ : n.b. D ₄ : 98 D ₅ : 97	D ₁ : 0.39 ± 0.22 D ₂ : 17.5 ± 1.5*** D ₃ : 47.5 ± 24 D ₄ : 11.3 ± 0.7*** D ₅ : 1.5 ± 0***	D ₁ : 1.35 ± 0.25 D ₂ : 33.5 ± 17.0*** D ₃ : - D ₄ : - D ₅ : 1.69 ± 1.94***
	67 [LE-PM 426]	D ₁ : 90 D ₂ : n.b. D ₃ : 100 D ₅ : n.b.	D ₁ : 3.8 ± 0.8 D ₂ : 80.5 ± 29 ⁽¹⁾ D ₃ : 140.5 ± 4.5 D ₅ : 7.1 ± 2.4	D ₁ : 10.7 ± 0.7 D ₂ : 30 ± 5.3 D ₃ : - D ₅ : 7.0 ± 1.2 ⁽¹⁾
	78 [LE-PM 437]	D ₁ : 100 D ₂ : n.b. D ₅ : n.b.	D ₁ : 41 ± 7 D ₂ : 446.5 ± 33.5 D ₅ : -	D ₁ : 309 ± 122 D ₂ : 31 ± 16 D ₅ : 61.3
	76 [LE-PM 455]	D ₁ : 0 D ₂ : 0 D ₃ : 8 D ₅ : -		D ₁ : 887 ± 61 D ₂ : n. auswertbar D ₃ : - D ₅ : 181

Tab. C.9: Bindungsdaten 3-substituierter Dibenz[d,g]azecine mit unterschiedlicher N-Substitution

* Prozentuale Abnahme der rezeptor-gebundenen Radioaktivität (%) durch eine 10 µM Lösung

** ± MABW (mittlere Abweichung vom Mittelwert) oder ± STABW⁽¹⁾ (Standardabweichung)

*** Radioligandbindungsdaten aus [Decker, 2001]; Calcium-Assay-Daten aus [Höfgen, 2002]

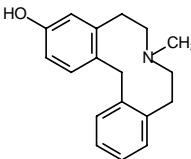
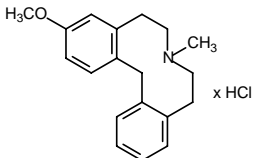
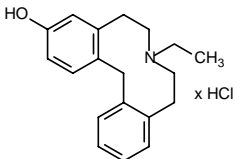
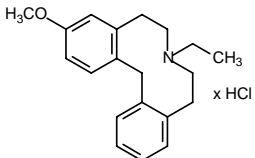
D.6 Vergleich der Bindungseigenschaften 3-hydroxylierter und 3-methoxylierter Dibenz[d,g]azecine

Das methoxylierte **61** zeigt im Vergleich zu **LE 404** in Radioligandbindungsstudien eine ca. 70fache Verringerung der Affinität zum D₁-Rezeptor, bei praktisch gleicher Affinität zum D₂-Rezeptor-Subtyp. Dies beobachtet man ebenso bei den Azecinen **67** und **66**. Durch die N-Ethyl-Gruppe nimmt, wie in Kapitel D.5 bereits erläutert, die Affinität ab.

Auch hier lässt sich aber eine, wenn auch geringere (9fache), Abnahme der D₁-Rezeptor-Bindung vom hydroxylierten zum methoxylierten Derivat beobachten. Vergleicht man die K_i-

Werte am D₂-Rezeptor, so erkennt man im Gegensatz zu den beiden N-Methyl-Derivaten, eine 7fache Affinitätssteigerung hin zum Methoxy-Azecin **66**. Da die K_i-Werte des Azecins **66** nahezu identisch mit denen der Verbindung **61** sind, lässt sich folgern, dass der N-Alkyl-Substituent, als Methyl- oder Ethyl-Gruppe, 3-methoxylierter Dibenz[d,g]azecine auf die Bindung zum Rezeptor keinen nennenswerten Einfluss besitzt.

Die aus dem Calcium-Assay gewonnenen K_i-Werte liegen bei diesen Azecinen in der gleichen Größenordnung der durch Radioligandbindungsversuche ermittelten Werte. Abweichungen sind vor allem bei Verbindung **66** zu beobachten.

Strukturformel	Chiffre Dissertation [intern]	Radioligandbindungs- Studien		Calcium-Assay
		Abnahme* [%]	K _i -Werte ** [nM]	K _i -Werte** [nM]
	LE 404 (62) [Schweikert, 1999]	D ₁ : 99 D ₂ : 98 D ₃ : n.b. D ₄ : 98 D ₅ : 97	D ₁ : 0.39 ± 0.22 D ₂ : 17.5 ± 1.5*** D ₃ : 47.5 ± 24 D ₄ : 11.3 ± 0.7*** D ₅ : 1.5 ± 0***	D ₁ : 1.35 ± 0.25 D ₂ : 33.5 ± 17.0*** D ₃ : - D ₄ : - D ₅ : 1.69 ± 1.94***
	61 [LE-PM 425]	D ₁ : 94 D ₂ : 99 D ₃ : 95 D ₅ : n.b.	D ₁ : 28.5 ± 9.7*** D ₂ : 13 ± 9*** D ₃ : 75.7 ± 7.3 D ₅ : -	D ₁ : 24.1 ± 3.9 D ₂ : 0.55 ± 0.23 ⁽¹⁾ D ₃ : - D ₅ : 7.2 ± 3.8
	67 [LE-PM 426]	D ₁ : 90 D ₂ : n.b. D ₃ : 100 D ₅ : n.b.	D ₁ : 3.8 ± 0.8 D ₂ : 80.5 ± 29 ⁽¹⁾ D ₃ : 140.5 ± 4.5 D ₅ : 7.1 ± 2.4	D ₁ : 10.7 ± 0.7 D ₂ : 30 ± 5.3 D ₃ : - D ₅ : 7.0 ± 1.2 ⁽¹⁾
	66 [LE-PM 427]	D ₁ : 99 D ₂ : -	D ₁ : 33 ± 2 D ₂ : 11.7 ± 1.3	D ₁ : 281 ± 4 D ₂ : 4.4 ± 2.9

Tab. C.10: Bindungsdaten 3-substituierter Dibenz[d,g]azecine mit unterschiedlicher N-Substitution

* Prozentuale Abnahme der rezeptor-gebundenen Radioaktivität (%) durch eine 10 µM Lösung

** ± MABW (mittlere Abweichung vom Mittelwert) oder ± STABW⁽¹⁾ (Standardabweichung)

*** Radioligandbindungsdaten aus [Decker, 2001] und [Wittig, 2004]; Calcium-Assay-Daten aus [Höfgen, 2002]

- Austausch der Hydroxy- durch eine Methoxy-Gruppe in Dibenz[d,g]azecinen führt zu einer Abnahme der Affinität am D₁-Rezeptor, bei praktisch keinem Einfluss auf den D₂-Rezeptor. N-Methyl- und N-Ethyl-Derivate zeigen, im Gegensatz zu hydroxylierten Azecin-Derivaten, etwa gleiche Bindungseigenschaften.

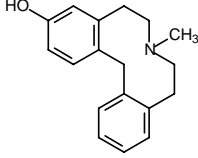
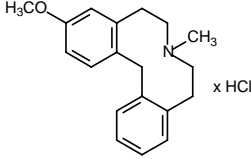
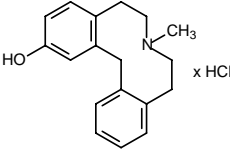
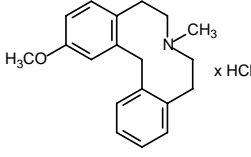
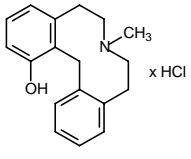
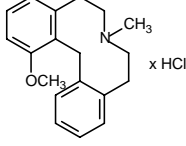
D.7 Vergleich der Bindungseigenschaften hydroxylierter und methoxylierter Dibenz[*d,g*]azecine in Abhängigkeit der Substituenten-Position

Die Radioligandbindungsdaten der in Tabelle C.11 vorgestellten 1-, 2- und 3-hydroxylierten bzw. methoxylierten Dibenz[*d,g*]azecine zeigen, wie die Bindungseigenschaften durch die Stellung eines Substituenten beeinflusst werden können.

Vergleicht man die hydroxylierten Azecine, so lässt sich ein Affinitätsverlust am D₂-Rezeptor vom 3-, zu 2-, zu 1-hydroxylierten Azecin um jeweils Faktor 2 feststellen. Auch zum D₁-Rezeptor besitzt das **LE 404** die höchste Affinität, während die Verbindungen **91** und **112** gleiche, aber 20fach verringerte Werte liefern. Die Lage der Hydroxy-Gruppe scheint keinen Einfluss auf die D₁/D₂-Selektivität zu nehmen. Ähnliches lässt sich bei den methoxylierten Azecinen beobachten. Das 3-methoxylierte **61** zeigt analog **LE 404** die höchste Affinität, mit abnehmender Bindungsstärke vom 2- zum 1-methoxylierten Azecin **90** bzw. **111**. Interessanterweise sinkt die Affinität zum D₁-Rezeptor von **61** zu **90**, allerdings steigt sie wieder um den Faktor zehn für das 1-methoxylierte Azecin **111**. Dadurch kommt es ebenfalls zu einer D₁/D₂-Selektivitätssteigerung von ca. 1:20 (D₁:D₂) im Gegensatz zum Verhältnis 1:1,3 (D₁:D₂) beim Azecin **90**. Vergleicht man das 2-hydroxylierte Azecin **91** mit dem 2-methoxylierten Azecin **90**, so lässt sich analog den 3-substituierten Azecinen (s. Kap. D.6) eine Verschlechterung der Affinität zum D₁- bei nur geringem Einfluss auf den D₂-Rezeptor feststellen. Bei den 1-substituierten Azecinen **111** und **112** lässt sich dieses Verhalten nicht beobachten. Stattdessen haben beide Substanzen am D₁-Rezeptor gleiche K_i-Werte, während sich die Affinität zum D₂-Rezeptor von **112** zu **111** halbiert. Diese recht ähnlichen Werte beider Verbindungen liegen in der Größenordnung des völlig unsubstituierten Dibenz[*d,g*]azecins **LE 410**, so dass ein Substituent in Position 1 der Azecine an der Bindung zum Rezeptor nicht wesentlich beteiligt zu sein scheint.

Betrachtet man die durch Calcium-Fluoreszenz-Messung erhaltenen Daten, so fällt vor allem eine D₁/D₂-Selektivitätsumkehr der Verbindungen **91** und **112** im Vergleich mit den Radioligandbindungsdaten auf. Eine Ursache hierfür konnte abschließend nicht geklärt werden. Das Verwenden unterschiedlicher D₂-Zelllinien könnte einen möglichen Grund darstellen (s. auch die Bemerkungen am Anfang des Kapitels D).

- *2-substituierte Dibenz[*d,g*]azecine sind weniger affin am D₁- und D₂-Rezeptoren als ihre 3-substituierten Analoga, bei gleichem Affinitätsverlust von Hydroxy- zur Methoxy-Substitution. 1-substituierte Dibenz[*d,g*]azecine zeigen gleiche Affinitäten am D₁-Rezeptor wie das 2-hydroxylierte Analogon, bei leichtem Affinitätsverlust am D₂-Rezeptor. Eine Beteiligung des Substituenten in 1-Position der Dibenz[*d,g*]azecine an der Bindung zum Rezeptor scheint wenig ausgeprägt zu sein. Die Position des Substituenten in 1-, 2- und 3-Stellung der Dibenz[*d,g*]azecine besitzt nur einen unwesentlichen Einfluss auf die Selektivität zu den Dopaminrezeptor-Subtypen.*

Strukturformel	Chiffre Dissertation [intern]	Radioligandbindungs- Studien		Calcium-Assay
		Abnahme* [%]	K _i -Werte ** [nM]	K _i -Werte** [nM]
	LE 404 (62) [Schweikert, 1999]	D ₁ : 99 D ₂ : 98 D ₃ : n.b. D ₄ : 98 D ₅ : 97	D ₁ : 0.39 ± 0.22 D ₂ : 17.5 ± 1.5*** D ₃ : 47.5 ± 24 D ₄ : 11.3 ± 0.7*** D ₅ : 1.5 ± 0***	D ₁ : 1.35 ± 0.25 D ₂ : 33.5 ± 17.0*** D ₃ : - D ₄ : - D ₅ : 1.69 ± 1.94***
	61 [LE-PM 425]	D ₁ : 94 D ₂ : 99 D ₃ : 95 D ₅ : n.b.	D ₁ : 28.5 ± 9.7*** D ₂ : 13 ± 9*** D ₃ : 75.7 ± 7.3 D ₅ : -	D ₁ : 24.1 ± 3.9 D ₂ : - D ₃ : - D ₅ : 7.2 ± 3.8
	91 [LE-PM 428]	D ₁ : 99 D ₂ : n.b. D ₃ : 100 D ₅ : 100	D ₁ : 8.9 ± 0.8 D ₂ : 36.9 ± 27.8 ⁽¹⁾ D ₃ : 236 D ₅ : 51.7 ± 21.7 ⁽¹⁾	D ₁ : 76.5 ± 16.5 D ₂ : 2.6 ± 0.6 D ₃ : - D ₅ : -
	90 [LE-PM 429]	D ₁ : 91 D ₂ : 94 D ₃ : 95	D ₁ : 82 ± 30*** D ₂ : 62 ± 5*** D ₃ : 150.5 ± 57.5	D ₁ : 567 ± 70 D ₂ : 21.1 ± 2.5 D ₃ : -
	112 [LE-PM 449]	D ₁ : 98 D ₂ : n.b.	D ₁ : 8.7 ± 2.0 D ₂ : 84 ± 3	D ₁ : 64.1 ± 19.5 D ₂ : 7.9 ± 0.3
	111 [LE-PM 448]	D ₁ : 100 D ₂ : n.b.	D ₁ : 7.6 ± 1.5 D ₂ : 164 ± 12	D ₁ : 37.6 ± 1.2 D ₂ : 39.9 ± 38.0 ⁽¹⁾

Tab. C.11: Bindungsdaten 1-, 2- und 3-substituierter Dibenz[d,g]azecine

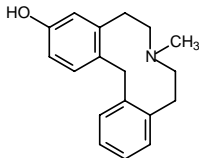
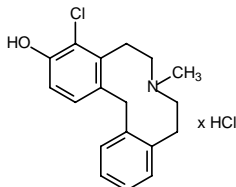
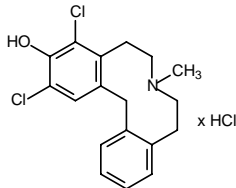
* Prozentuale Abnahme der rezeptor-gebundenen Radioaktivität (%) durch eine 10 µM Lösung

** ± MABW (mittlere Abweichung vom Mittelwert) oder ± STABW⁽¹⁾ (Standardabweichung)

*** Radioligandbindungsdaten aus [Decker, 2001] und [Wittig, 2004]; Calcium-Assay-Daten aus [Höfgen, 2002]

D.8 Vergleich chlorierter 3-hydroxylierter Dibenz[*d,g*]azecine

Der Standard-Antagonist **SCH 23390**, mit Hydroxy- und Chlor-Substitution (s. Tab. A.1 in Kap. A.1.3), ist ein hochaffiner D₁/D₅-selektiver Ligand. Dies gab Anlass zur Synthese chlorierter **LE 404**-Derivate. Wie Tabelle C.11 zeigt, erreicht das monochlorierte Azecin **68** dabei tatsächlich subnanomolare K_i-Werte am D₁-Rezeptor in der Größenordnung des **LE 404**, dem bislang affinsten Dibenz[*d,g*]azecin. Herausragend ist hier aber die Affinität zum D₅-Rezeptor mit einem K_i-Wert von 0,057 nM und einer D₁/D₅-Selektivität von ca. 1:14 zugunsten des D₅-Rezeptors. Im Vergleich mit **LE 404** bedeutet dies eine 26fache Affinitätssteigerung an diesem Rezeptor-Subtyp und bildet damit die affinste Verbindung aus der Reihe der Dibenz[*d,g*]azecine. Die erhoffte Selektivität zu der D₂-Rezeptor-Familie konnte dagegen nicht bestätigt werden. Im Vergleich zum **LE 404** nimmt diese sogar leicht ab. Die Werte der Radioligandbindungsexperimente und des Calcium-Assays stimmen hier gut überein. Einführung eines zweiten Chlors führt dann aber wieder zu einem leichten Affinitätsverlust am D₁- und D₂-Rezeptor, wobei auch hier kein subtypselektiver Ligand synthetisiert werden konnte.

Strukturformel	Chiffre Dissertation [intern]	Radioligandbindungs- Studien		Calcium-Assay
		Abnahme* [%]	K _i -Werte ** [nM]	K _i -Werte** [nM]
	LE 404 (62) [Schweikert, 1999]	D ₁ : 99 D ₂ : 98 D ₃ : n.b. D ₄ : 98 D ₅ : 97	D ₁ : 0.39 ± 0.22 D ₂ : 17.5 ± 1.5*** D ₃ : 47.5 ± 24 D ₄ : 11.3 ± 0.7*** D ₅ : 1.5 ± 0***	D ₁ : 1.35 ± 0.25 D ₂ : 33.5 ± 17.0*** D ₃ : - D ₄ : - D ₅ : 1.69 ± 1.94***
	68 [LE-PM 436]	D ₁ : 98 D ₂ : n.b. D ₃ : 97 D ₅ : n.b.	D ₁ : 0.83 ± 0.15 ⁽¹⁾ D ₂ : 4 ± 1.9 D ₃ : 24.6 ± 6.4 ⁽¹⁾ D ₅ : 0.057 ± 0.06 ⁽¹⁾	D ₁ : 0.46 ± 0.36 ⁽¹⁾ D ₂ : 6.1 ± 4.8 ⁽¹⁾ D ₃ : - D ₅ : 0.053 ± 0.02 ⁽¹⁾
	69 [LE-PM 442]	D ₁ : 100 D ₂ : n.b. D ₅ : n.b.	D ₁ : 3.2 ± 0.6 D ₂ : 88 ± 21 D ₅ : -	D ₁ : 3.8 ± 1.4 ⁽¹⁾ D ₂ : 37.5 ± 12 D ₅ : 1.2 ± 0.7

Tab. C.11: Bindungsdaten chlorierter Dibenz[*d,g*]azecine im Vergleich mit **LE 404**

* Prozentuale Abnahme der rezeptor-gebundenen Radioaktivität (%) durch eine 10 μM Lösung

** ± MABW (mittlere Abweichung vom Mittelwert) oder ± STABW⁽¹⁾ (Standardabweichung)

*** Radioligandbindungsdaten aus [Decker, 2001]; Calcium-Assay-Daten aus [Höfgen, 2002]

- Die Einführung eines Chlor-Substituenten in 4-Position des 3-hydroxylierten Dibenz[d,g]azecins **LE 404** belässt die Affinität zum D₁-Rezeptor und führt zu einer 26fachen Affinitätssteigerung am D₅-Rezeptor. **68** erreicht damit einen K_i-Wert im picomolaren Bereich und ist der affinste Ligand am D₅-Rezeptor-Subtyp aller bekannten Liganden. Einführung eines zweiten Chlor-Atoms senkt die Affinität wieder.

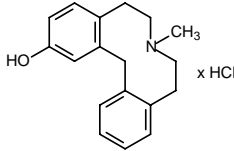
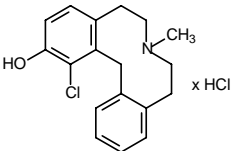
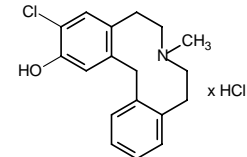
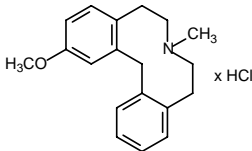
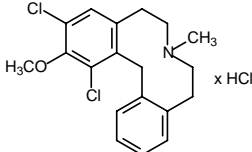
D.9 Vergleich der Bindungseigenschaften chlorierter 2-Hydroxy- und 2-Methoxy-dibenz[d,g]azecine

Wie in Kapitel D.8 bereits erläutert wurde, konnte durch Chlorierung des 3-hydroxylierten Dibenz[d,g]azecins **LE 404** eine Affinitätssteigerung beobachtet werden. Die Frage war, ob dies auch für 2-hydroxylierte Azecine gilt. Besonders attraktiv erschien dabei die Synthese der Verbindung **100**, da dieses Azecin, in Bezug auf das Substitutionsmuster, ein Analogon des in Bindungsstudien verwendeten Standard-Antagonisten **SCH 23390** darstellt (s. Tab. A.1 in Kap. A.1.3).

Chloriert man das 2-hydroxylierte Azecin **91** in Position 3 (**100**), steigt auch hier die Affinität zum D₁- und D₂-Rezeptor (vergleiche Kap. D.8), aber relativ gering (ca. Faktor 3 am D₁-Rezeptor) und ohne Einfluss auf die Selektivität. Effektiver ist die Einführung eines Chlor-Atoms in 1-Position. **99** zeigt subnanomolare K_i-Werte in der Größenordnung des **LE 404**, mit einer im Vergleich zum Azecin **91** fast 20fachen Affinitätssteigerung am D₁- und über 30fachen am D₂-Rezeptor. Damit gelang es erstmals in dieser Substanzklasse einen hochaffinen D₂-Liganden mit K_i-Werten im subnanomolaren Bereich zu synthetisieren. Eine Selektivität bezüglich einer Rezeptorfamilie konnte allerdings nicht erreicht werden.

Das dichlorierte 2-Methoxy-azecin **98** zeigt im Vergleich mit dem 2-Methoxy-Derivat **90** ebenfalls gesteigerte Affinität zum D₁- mit leichtem Affinitätsverlust zum D₂-Rezeptor. Die aus dem Calcium-Assay gewonnenen K_i-Werte bestätigen die durch Chlorierung erzielten Affinitätssteigerungen, jedoch erscheinen diese am D₂-Rezeptor ausgeprägter. Auch hier wird für das Azecin **99** ein subnanomolarer K_i-Wert am D₂-Rezeptor erreicht (s. auch Kap. D, Anfang).

- Die Einführung eines Chlor-Substituenten in 2-hydroxylierte Dibenz[d,g]azecine führt zu einer Affinitätssteigerung, mit einem weit größeren Einfluss durch die Chlorierung in 1-Position. Dies führt zu subnanomolaren K_i-Werten am D₁-Rezeptor, vergleichbar mit **LE 404**, und erstmals auch subnanomolaren K_i-Werten am D₂-Rezeptor. Eine Selektivität durch eine Chlorierung kann nicht erreicht werden.
Einführung von Chlor-Atomen in 2-methoxylierte Azecine führt ebenfalls zu einer Steigerung der Affinität, aber durch die Methoxy-Gruppe bei insgesamt niedrigeren Werten.
-

Strukturformel	Chiffre Dissertation [intern]	Radioligandbindungs- Studien		Calcium-Assay
		Abnahme* [%]	K _i -Werte ** [nM]	K _i -Werte** [nM]
	91 [LE-PM 428]	D ₁ : 99 D ₂ : n.b. D ₃ : 100 D ₅ : 100	D ₁ : 8.9 ± 0.8 D ₂ : 36.9 ± 27.8 ⁽¹⁾ D ₃ : 236 D ₅ : 51.7 ± 21.7 ⁽¹⁾	D ₁ : 76.5 ± 16.5 D ₂ : 2.6 ± 0.6 D ₃ : - D ₅ : -
	99 [LE-PM 452]	D ₁ : n.b. D ₂ : n.b. D ₅ : n.b.	D ₁ : 0.46 ± 0.22 ⁽¹⁾ D ₂ : 0.99 ± 0.02 D ₅ : -	D ₁ : 6.8 ± 4.9 ⁽¹⁾ D ₂ : 0.13 ± 0.06 ⁽¹⁾ D ₅ : 1.6 ± 0.7 ⁽¹⁾
	100 [LE-PM 454]	D ₁ : n.b. D ₂ : n.b. D ₅ : n.b.	D ₁ : 3.1 ± 1.7 ⁽¹⁾ D ₂ : 2.0 ± 0.5 D ₅ : -	D ₁ : 10.8 ± 9.2 ⁽¹⁾ D ₂ : 4.8 ± 2.5 D ₅ : 3.1 ± 0.7
	90 [LE-PM 429]	D ₁ : 91 D ₂ : 94 D ₃ : 95	D ₁ : 82 ± 30*** D ₂ : 62 ± 5*** D ₃ : 150.5 ± 57.5	D ₁ : 567 ± 70 D ₂ : 21.1 ± 2.5 D ₃ : -
	98 [LE-PM 434]	D ₁ : 99 D ₂ : n.b. D ₃ : 97 D ₅ : n.b.	D ₁ : 25.3 ± 5 D ₂ : 210 ± 133 D ₃ : 415 ± 138 D ₅ : -	D ₁ : 34 ± 27 D ₂ : 2.5 ± 0.8 D ₃ : - D ₅ : 59 ± 47

Tab. C.12: Bindungsdaten chlorierter Dibenz[d,g]azecine im Vergleich

* Prozentuale Abnahme der Rezeptor-gebundenen Radioaktivität (%) durch eine 10 µM Lösung

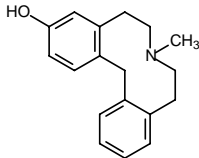
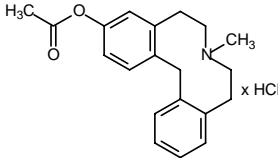
** ± MABW (mittlere Abweichung vom Mittelwert) oder ± STABW⁽¹⁾ (Standardabweichung)

*** Radioligandbindungsdaten aus [Wittig, 2004]

D.10 Vergleich der Bindungseigenschaften zwischen **LE 404** und seiner ZNS-gängigen Prodrug-Variante **79**

Durch die Acetylierung der phenolischen OH-Gruppe des **LE 404** sollte eine ZNS-gängige Variante entwickelt werden. Es zeigten sich überraschenderweise kaum Unterschiede in den Bindungseigenschaften zwischen **LE 404** und **79**, die ebenso subnanomolare K_i-Werte am D₁-Rezeptor lieferte. Dies ließ vermuten, dass die schon im synthetischen Teil (s. Kap. B.3.7) beschriebene Hydrolyse des Azecins **79** zu **LE 404** auch unter Testbedingungen erfolgte.

Durch nachträgliche GC/MS-Analyse zweier Proben der für die Radioligandbindungsstudie verwendeten wäßrigen Verdünnungsreihe der Substanz **79**, konnte jedoch nur ein sehr geringer Anteil Hydrolyseprodukt gefunden werden, so dass die für den D₁- und D₂-Rezeptor gefundenen Werte tatsächlich der Struktur **79** zugesprochen werden müssen. Messungen an den anderen Dopaminrezeptor-Subtypen werden weitere Aufschlüsse ergeben.

Strukturformel	Chiffre Dissertation [intern]	Radioligandbindungs- Studien		Calcium-Assay
		Abnahme* [%]	K _i -Werte ** [nM]	K _i -Werte** [nM]
	LE 404 (62) [Schweikert, 1999]	D ₁ : 99 D ₂ : 98 D ₃ : n.b. D ₄ : 98 D ₅ : 97	D ₁ : 0.39 ± 0.22 D ₂ : 17.5 ± 1.5*** D ₃ : 47.5 ± 24 D ₄ : 11.3 ± 0.7*** D ₅ : 1.5 ± 0***	D ₁ : 1.35 ± 0.25 D ₂ : 33.5 ± 17.0*** D ₃ : - D ₄ : - D ₅ : 1.69 ± 1.94***
	79 [LE-PM 447]	D ₁ : 100 D ₂ : n.b.	D ₁ : 0.45 ± 0.07 D ₂ : 27.6 ± 17.4 ⁽¹⁾	D ₁ : 1.3 ± 1.6 D ₂ : 3.7 ± 1.2

Tab. C.13: Bindungsdaten 3-substituierter Dibenz[*d,g*]azecine

- * Prozentuale Abnahme der rezeptor-gebundenen Radioaktivität (%) durch eine 10 µM Lösung
 ** ± MABW (mittlere Abweichung vom Mittelwert) oder ± STABW⁽¹⁾ (Standardabweichung)
 *** Radioligandbindungsdaten aus [Decker, 2001]; Calcium-Assay-Daten aus [Höfgen, 2002]

- Acetylierung von **LE 404** zu **79** scheint die Bindungseigenschaften zu konservieren.

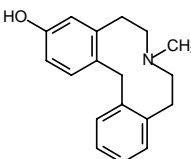
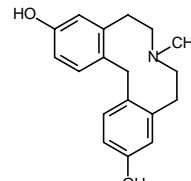
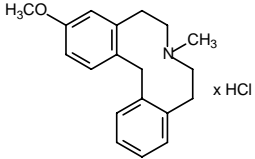
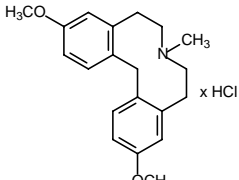
D.11 Einfluss weiterer Substituenten in 2-Position auf die Bindungseigenschaften von 3-Hydroxy-dibenz[*d,g*]azecinen

Wie Decker [Decker, 2001] im Vergleich des monohydroxylierten Azecins **LE 404** mit dem dihydroxylierten **LE 403** zeigen konnte, führt die Einführung einer zweiten Hydroxy-Gruppe zu einem relativ starkem Affinitätsverlust. Dies verwundert, handelt es sich doch bei **LE 403** um die dem Dopamin strukturell verwandtere Verbindung. Hier zeigt sich auch ein großer Unterschied zwischen den in Radioligandbindungsstudien und im Calcium-Assay gewonnenen Daten, wenn diese auch beide schlechtere K_i-Werte als **LE 404** liefern.

Eine Amino-Gruppe in 2-Position des 3-hydroxylierten Azecins (**73**) senkt die Affinität im Radioligandbindungsexperiment um den Faktor 20. Im Calcium-Assay liegen die Werte in

eher schlechteren K_i -Werten am D_1 -Rezeptor. Hier kommt es zu einer, wenn auch nur 2-3fachen Affinitätssteigerung an beiden Rezeptor-Subtypen zugunsten der dimethoxylierten Verbindung **123**. Im Calcium-Assay erscheinen die K_i -Werte beider Substanzen nahezu identisch und ergeben sogar subnanomolare Werte am D_2 -Rezeptor. Ein Erklärungsversuch für diese Neigung zur D_2 -Selektivität wird am Anfang des Kapitels D gegeben.

Vergleicht man beide disubstituierten Azecine **122** und **123** miteinander, so scheint hier die Bindung zum D_2 -Rezeptor stärker durch die methoxylierte, als durch die hydroxylierte Verbindung beeinflusst zu werden.

Strukturformel	Chiffre Dissertation [intern]	Radioligandbindungs- Studien		Calcium-Assay
		Abnahme* [%]	K_i -Werte ** [nM]	K_i -Werte** [nM]
	LE 404 (62) [Schweikert, 1999]	D ₁ : 99 D ₂ : 98 D ₃ : n.b. D ₄ : 98 D ₅ : 97	D ₁ : 0.39 ± 0.22 D ₂ : $17.5 \pm 1.5^{***}$ D ₃ : 47.5 ± 24 D ₄ : $11.3 \pm 0.7^{***}$ D ₅ : $1.5 \pm 0^{***}$	D ₁ : 1.35 ± 0.25 D ₂ : $33.5 \pm 17.0^{***}$ D ₃ : - D ₄ : - D ₅ : $1.69 \pm 1.94^{***}$
	123 [LE-PM 451]	D ₁ : n.b. D ₂ : n.b. D ₅ : n.b.	D ₁ : $2.0 \pm 1.2^{(1)}$ D ₂ : $58.7 \pm 11.7^{(1)}$ D ₅ : -	D ₁ : 3.3 ± 0.1 D ₂ : $19.0 \pm 10.5^{(1)}$ D ₅ : $0.54 \pm 0.36^{(1)}$
	61 [LE-PM 425]	D ₁ : 94 D ₂ : 99 D ₃ : 95 D ₅ : n.b.	D ₁ : $28.5 \pm 9.7^{***}$ D ₂ : $13 \pm 9^{***}$ D ₃ : 75.7 ± 7.3 D ₅ : -	D ₁ : 24.1 ± 3.9 D ₂ : $0.55 \pm 0.23^{(1)}$ D ₃ : - D ₅ : 7.2 ± 3.8
	122 [LE-PM 453]	D ₁ : n.b. D ₂ : n.b. D ₅ : n.b.	D ₁ : 9.4 ± 1.0 D ₂ : 6.5 ± 0.2 D ₅ : -	D ₁ : 26.9 ± 11.4 D ₂ : $0.62 \pm 0.34^{(1)}$ D ₅ : $11.5 \pm 7.5^{(1)}$

Tab. C.15: Bindungsdaten mono- und dihydroxylierter und methoxylierter Dibenz[d,g]azecine

* Prozentuale Abnahme der rezeptor-gebundenen Radioaktivität (%) durch eine 10 μ M Lösung

** \pm MABW (mittlere Abweichung vom Mittelwert) oder \pm STABW⁽¹⁾ (Standardabweichung)

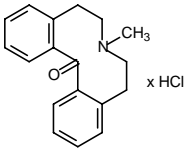
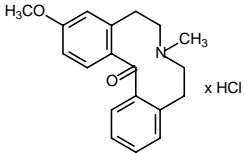
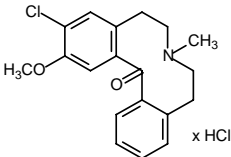
*** Radioligandbindungsdaten aus [Decker, 2001] und [Wittig, 2004]; Calcium-Assay-Daten aus [Höfgen, 2002]

- Die Einführung eines zusätzlichen Substituenten am zweiten Aromaten der Dibenz[d,g]azecine hat keinen großen Einfluss auf die Affinität zu den Dopaminrezeptor-Subtypen. Im Verhältnis zu ihrem monosubstituierten Analogon kommt es bei **123** zu einem geringen Affinitätsverlust, während **122** eine geringe Affinitätssteigerung bewirkt. Das dimethoxylierte Derivat **122** besitzt im Vergleich zum Azecin **123** eine leichte D_2 -Prävalenz.

D.13 Vergleich der Bindungseigenschaften verschiedener Dibenz[d,g]azecinone

Wie aus Tabelle C.16 ersichtlich, zeigen Dibenz[d,g]azecinone, unabhängig von ihrem Substitutionsmuster, keine Affinität zu den Dopaminrezeptor-Subtypen. Diskutiert werden hier zwei Ursachen bzw. die Kombination aus beiden.

Einerseits kommt es durch die Keto-Funktion wahrscheinlich zu einer eher planaren Lage des Moleküls, so dass die von Schweikert [Schweikert, 1999] anhand einer Röntgenstrukturanalyse (s. Kap. B.2.2, Abb. B.18) für das unsubstituierte Dibenz[d,g]azecin **LE 410** postulierte leichtgewinkelte Stellung des Moleküls aufgehoben wäre, was möglicherweise zum Verlust der Bindung zum Rezeptor führt.

Strukturformel	Chiffre Dissertation [intern]	Radioligandbindungs- Studien		Calcium-Assay
		Abnahme* [%]	K_i -Werte ** [nM]	K_i -Werte** [nM]
	124 [LE-PM 439]	D_1 : 15 D_2 : 0 D_3 : 0 D_5 : -		
	129 [LE-PM 441]	D_1 : 44 D_2 : 0		
	104 [LE-PM 438]	D_1 : 0 D_2 : 0 D_3 : 8 D_5 : -		D_1 : > 40000 D_2 : - D_3 : - D_5 : 24800

Tab. C.16: Bindungsdaten verschiedener Dibenz[d,g]azecinone

* Prozentuale Abnahme der rezeptor-gebundenen Radioaktivität (%) durch eine 10 μ M Lösung

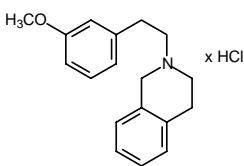
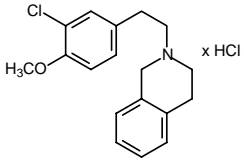
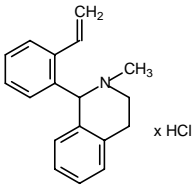
** \pm MABW (mittlere Abweichung vom Mittelwert) oder \pm STABW⁽¹⁾ (Standardabweichung)

Die andere Ursache liegt in dem transannularen Verhalten der Azecinone begründet, die je nach pH-Wert ein Proton über den Sauerstoff unter gleichzeitigem Ringschluss der zentralen C-N-Bindung aufnehmen. Diese reversible Reaktion führt zu quartären Chinoliziniumsalzen (s. synthetischer Teil, Kap. B.7), die nur sehr schwache Affinitäten an den Dopaminrezeptor-Subtypen aufweisen sollten. Da die Durchführung der Bindungsstudien (s. Kap. G.2) in einem Puffer bei einem physiologischen pH-Wert von 7,4 erfolgten, ist anzunehmen, das zumindest ein Teil der Verbindung protoniert und damit als unwirksames Chinoliziniumsalz vorliegt.

- *Dibenz[d,g]azecinone zeigen unabhängig von ihrem Substitutionsmuster keine Affinität zu den Dopaminrezeptor-Subtypen.*

D.14 Auswirkung des Rigiditätsverlustes auf die Bindungseigenschaften offenkettiger Analoga der Dibenz[d,g]azecine

Es konnte gezeigt werden, dass alle Dibenz[d,g]azecine mehr oder weniger starke Liganden an den Dopaminrezeptor-Subtypen sind. Im Folgenden soll untersucht werden, ob auch Partialstrukturen dieser Azecine Affinitäten zu den Dopaminrezeptoren aufbauen können.

Strukturformel	Chiffre Dissertation [intern]	Radioligandbindungs- Studien		Calcium-Assay
		Abnahme* [%]	K _i -Werte ** [nM]	K _i -Werte** [nM]
	139 [LE-PM 444]	D ₁ : 96 D ₂ : n.b.	D ₁ : 365 ± 27 D ₂ : 829	D ₁ : 916 ± 77 D ₂ : 332 ± 218
	141 [LE-PM 445]	D ₁ : 51 D ₂ : 68	D ₁ : - D ₂ : -	D ₁ : 798 D ₂ : 66 ± 30
	125 [LE-PM 450]	D ₁ : 38 D ₂ : 0		

Tab. C.17: Bindungsdaten offenkettiger Analoga der Dibenz[d,g]azecine

* Prozentuale Abnahme der rezeptor-gebundenen Radioaktivität (%) durch eine 10 µM Lösung

** ± MABW (mittlere Abweichung vom Mittelwert) oder ± STABW⁽¹⁾ (Standardabweichung)

Dazu wurde formal eine Bindung zwischen den beiden Aromaten geöffnet, um so einen Rigiditätsverlust zu erzeugen. Diese strukturell flexibleren Tetrahydroisochinolin-Analoga wurden dann in Radioligandbindungsstudien und im Calcium-Assay getestet.

Dabei zeigt sich für das bei der Synthese des unsubstituierten Azecinons **124** anfallende Nebenprodukt **125** ein völliger Affinitätsverlust. Die N-Phenylethyl-tetrahydroisochinoline **139** und **141** sind dagegen noch moderat affin, wenn auch die K_i -Werte im Vergleich zu den Dibenz[d,g]azecinen deutlich höher sind. Im Calcium-Assay lässt sich eine gewisse Prävalenz zum D₂-Rezeptor feststellen, die bei Verbindung **141** ausgeprägter erscheint. Im Radioligandbindungsexperiment wurde diese Substanz dagegen nicht weiter getestet, da die prozentuale Abnahme der rezeptor-gebundenen Radioaktivität der 10 μ M Lösung von **141** unter 70% lag.

- *N-Phenylethyl-tetrahydroisochinoline als offenkettige Analoga der Dibenz[d,g]azecine haben deutlich geringere, das 1-Phenyl-tetrahydroisochinolin-Derivat **125** sogar keine Affinität.*

E. Zusammenfassung

Basierend auf der im Arbeitskreis entwickelten Leitstruktur **LE 404** (s. Abb. E.2, **157**: $R_1, R_2, R_3=H$; $R_4=CH_3$), einem hochaffinen Dopaminrezeptor-Liganden aus der Klasse der Dibenz[*d,g*]azecine, sollten in dieser Arbeit neue substituierte Verbindungen dieser Klasse und Teilstrukturen davon synthetisiert werden, um diese durch Radioligandbindungs-experimente und Calcium-Fluoreszenz-Messungen auf ihre Bindungseigenschaften an den Dopaminrezeptor-Subtypen zu untersuchen.

So sollte ein „Pool“ an Substanzen mit unterschiedlichen Affinitäts- und Selektivitätsprofilen geschaffen werden, der das Aufstellen von Struktur-Wirkungs-Beziehungen in dieser neuen Substanzklasse ermöglicht. Ebenso könnte dieser „Pool“ potentielle Neuroleptika liefern, die die typischen Nebenwirkungen vieler Psychopharmaka, wie die D_2 -vermittelten extrapyramidal-motorischen oder endokrinen Störungen, in geringerer Ausprägung zeigen.

Es gelang die Darstellung, die analytische Charakterisierung und die pharmakologische Evaluierung von 31 neuartigen Dibenz[*d,g*]azecinen bzw. Teilstrukturen von diesen. Die wesentlichen Ergebnisse waren:

1. Die Synthese der am Aromaten unsubstituierten Dibenz[*d,g*]azecine (s. Abb. E.1, **155** u. **156**) wurde eingeleitet durch Pictet-Spengler-ähnliche Zyklisierung von 2-Phenylethylchlorid und Benzonitril zum 1-Phenyl-3,4-dihydroisochinolin, welches einmal mit 2-Bromethanol quarternisiert und anschließend zum 2-(2-Hydroxyethyl)-1-phenyl-1,2,3,4-tetrahydroisochinolin reduziert, bzw. zuerst reduziert und das erhaltene sekundäre Amin mit 1,2-Epoxybutan umgesetzt wurde. Beide Derivate konnten mit Polyphosphorsäure zu Dibenz[*a,h*]chinolizinen zyklisiert werden, die mit verschiedenen Alkylierungsmitteln quarternisiert bzw. mit *m*-Chlorperbenzoesäure in das N-Oxid übergeführt wurden. Abschließende Spaltung der benzyllischen C-N-Bindung unter Birch-Bedingungen führte zu **155** und den bivalenten Liganden **156**. Die Darstellung des N-benzylierten **155** gelang nicht durch Spaltung eines quartären N-Benzyliumsalzes, hier ist die Debenzylierung bevorzugt, wohl aber durch Benzylierung des aus dem N-Oxid erhaltenen „NH-Derivats“.

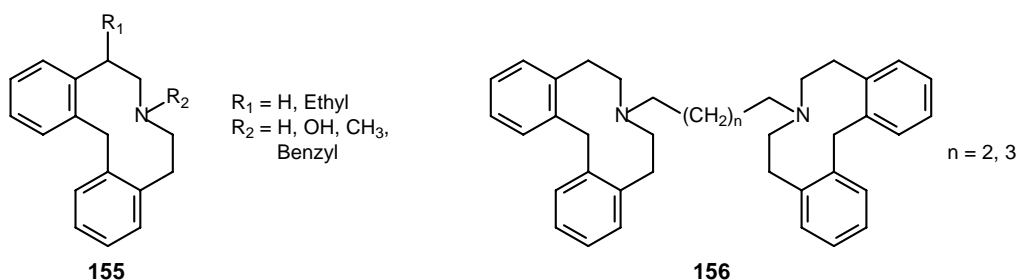


Abb. E.1: Aromatisch unsubstituierte Dibenz[*d,g*]azecin-Derivate (**155**) bzw. dimere dieser Verbindung (**156**)

2. Zur Darstellung aromatisch substituierter Dibenz[*d,g*]azecine (s. Abb. E.2, **157**) wurde Isochromanon mit Phenylethylaminen zu Hydroxyethylbenzamidinen umgesetzt, die - z. T. an der alkoholischen Gruppe geschützt - mit Phosphorylchlorid zu Dibenzo[*a,h*]chinolizinen zyklisiert wurden. Die 3-methoxylierten Dibenzo[*a,h*]chinolizine wurden entweder direkt oder nach Nitrierung bzw. Chlorierung quarternisiert, z. T. die Etherfunktion gespalten und dann wiederum die zentrale C-N-Bindung unter Birch-Bedingungen oder erstmals durch katalytische Hydrierung mit Platindioxid und Wasserstoff zu den Dibenz[*d,g*]azecinen gespalten. Eine weitere Ringerweiterungsvariante gelang durch Quarternisierung des Chinolizins mit Chlorameisensäureethylester und Spaltung mit Natriumcyanoborhydrid zum Urethan, welches zum N-Methyl- oder zum NH-Azecin reduziert werden konnte. Weitere wichtige Dibenz[*d,g*]azecine wurden durch Chlorierung erhalten. Bemerkenswerterweise glückte bei der analogen Synthese der 2-hydroxylierten bzw. 2-methoxylierten Dibenz[*d,g*]azecine **158** die Spaltung der zentralen C-N-Bindung nur unter Birch-Bedingungen. Abschließend wurden in dieser Reihe auch 1-hydroxylierte und 1-methoxylierte Dibenz[*d,g*]azecine hergestellt (s. Abb. E.2, **159**).

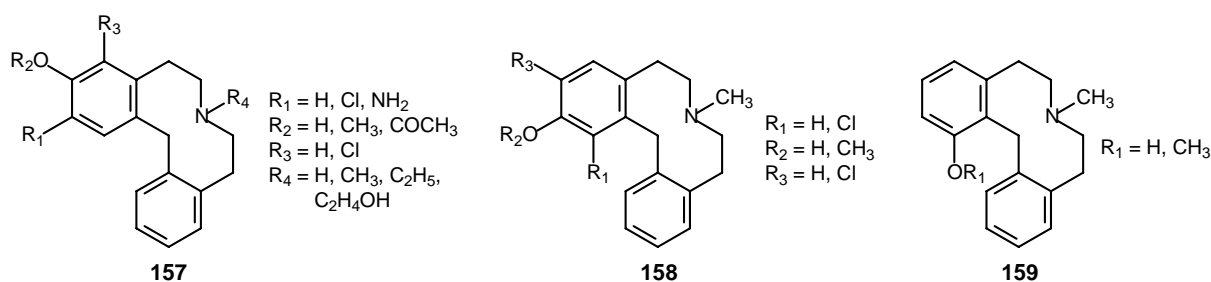


Abb. E.2: Aromatisch substituierte Dibenz[*d,g*]azecin-Derivate mit 1-, 2- und 3-Hydroxylierung bzw. Methoxylierung als Klassifizierungsmerkmal (**159**, **158** bzw. **157**)

3. Ein weiteres Ziel war die Synthese 3,11-substituierter Dibenz[*d,g*]azecine (s. Abb. E.3, **160**). Sie erforderte zunächst die Darstellung eines methoxylierten Isochromanons, während die weiteren Reaktionsschritte wie unter „2.“ beschrieben verliefen.

4. Dibenz[*d,g*]azecinone (s. Abb. E.3, **161**) wurden durch Umsetzung der quartären Dibenzo[*a,h*]chinoliziniumsalze mit Natriumhydrid und DMSO gewonnen. Ihre säurekatalysierte Rezyklisierung zu **161a** wurde studiert.

5. Schließlich wurden noch N-Phenylethyl-tetrahydroisochinoline (s. Abb. E.3, **162**), als Teilstrukturen der Dibenz[*d,g*]azecine, durch Reduktion der entsprechenden Lactame hergestellt. Diese wurden wiederum durch Lactamisierung von Isochromanon bei hohen Temperaturen oder durch Umsetzung ungeschützter, für den Bischler-Napieralski-Ringschluss nicht aktivierter Hydroxyethylbenzamide (s. 2.) mit Phosphorylchlorid gewonnen.

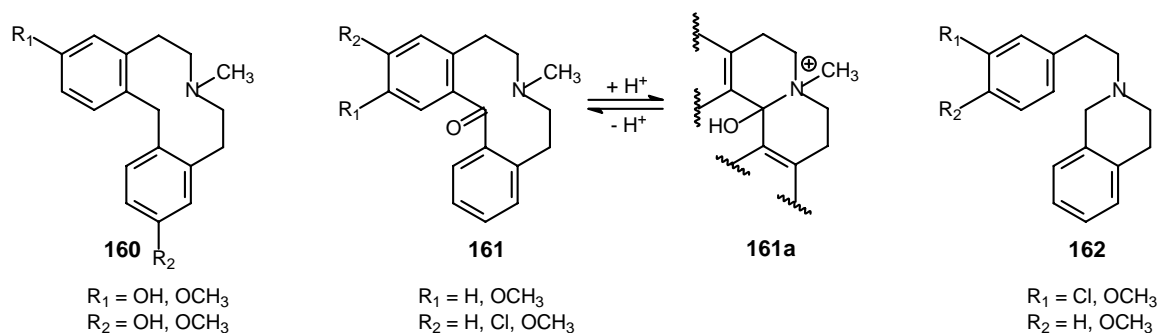


Abb. E.3: 3,11- substituierte Dibenz[d,g]azecine (**160**), Dibenz[d,g]azecinone (**161**) und N-Phenylethyl-tetrahydroisochinoline als Teilstruktur der Dibenz[d,g]azecine (**162**)

6. Im Verlauf der Synthesearbeit wurden bisher nicht angewandte Ringerweiterungsreaktionen von Dibenzochinolizinen zu Dibenz-azecinen erarbeitet und verglichen. Danach bleibt die Spaltung mit Natrium in flüssigem Ammoniak (Birch-Bedingungen) trotz der Gefahr einer Aromatenhydrierung die Methode der Wahl. Ungeeignet ist sie zur selektiven Ringerweiterung von chlorierten (Dehydrohalogenierung!) und nitrierten (Mitreduktion) Derivaten. In Einzelfällen sind die anderen Spaltungsmethoden - Hydrogenolyse mit H_2/PtO_2 und NaBH_3CN -Spaltung zyklischer Urethane - erfolgreicher.

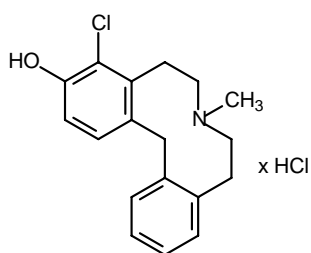
Ebenso wurden nicht nur die abschließenden Ringerweiterungsreaktionen sondern auch die verschiedenen Wege zu den Dibenzochinolizinen vergleichend untersucht. Es zeigte sich dabei, dass es nicht eine „optimale“ Methode gibt, sondern dass eine Variation des Substitutionsmusters in den Zielstrukturen auch eine Variation des Syntheseweges erfordert.

7. Im Rahmen der GC/MS-Analytik wurde eine Datenbank erstellt, um Dibenz[d,g]azecine und wichtige Synthesevorstufen anhand ihres Fragmentierungsmusters schnell zu identifizieren und Umsetzungsraten sicher ermitteln zu können.

8. Im pharmakologischen Teil wurden die Affinitäten der Zielstrukturen an den Dopaminrezeptor-Subtypen hD_1 , $\text{hD}_{2\text{L}}$, hD_3 und hD_5 , exprimiert in HEK- und CHO-Zelllinien, mit der Hilfe von technischen Mitarbeitern in Radioligandbindungstudien und in einem funktionellen Calcium-Assay bestimmt. Die gefundenen Struktur-Wirkungs-Beziehungen lassen sich wie folgt zusammenfassen:

- N-methylierte Dibenz[d,g]azecine, unabhängig von ihrer aromatischen Substitution, zeigen maximale Affinität, Vergrößerung und Verkleinerung des N-Substituenten verringern sie.
- Bivalente Dibenz[d,g]azecine sind weniger affin an D_1 - und D_2 -Rezeptoren als die analogen bivalenten Benzindolo-azecine und weisen eine geringe Selektivität zum D_3 -Rezeptor auf.

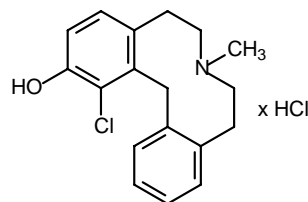
- 3-Hydroxylierung der Dibenz[d,g]azecine steigert die Affinitäten dramatisch.
- Austausch der Hydroxy- durch eine Methoxy-Gruppe senkt die Affinität zum D_1 -Rezeptor deutlich, bei geringer Veränderung am D_2 -Rezeptor.
- 1- und 2-substituierte Dibenz[d,g]azecine zeigen im Vergleich zu 3-substituierten Azecinen geringere Affinitäten.
- Das 4-Chloro-3-hydroxy-dibenz[d,g]azecin **68** ragt heraus. Die Verbindung produziert am D_1 -Rezeptor subnanomolare und am D_5 -Rezeptor picomolare K_i -Werte.
- Die Chlorierung 2-hydroxylierter Dibenz[d,g]azecine steigert die Affinität, überraschenderweise in 1-Position mehr als in 3-Position. **99** zeigt subnanomolare K_i -Werte am D_1 -Rezeptor und - als einziges Derivat - auch am D_2 -Rezeptor.
- Einführung weiterer Substituenten in 2-Stellung 3-hydroxylierter Dibenz[d,g]azecine senkt deren Affinität.
- 3,11-Dihydroxy-N-methyl-dibenz[d,g]azecin ist weniger affin als das monohydroxylierte Analogon, während das 3,11-dimethoxylierte Azecin etwas affiner als die monomethoxylierte Verbindung ist.
- Dibenz[d,g]azecinone zeigen unabhängig von ihrem Substitutionsmuster keine Affinität zu den Dopaminrezeptor-Subtypen.
- Die Reduktion der Dibenz[d,g]azecin-Struktur zur N-Phenylethyl-tetrahydroisochinolin-Teilstruktur führt zum deutlichen Affinitätsverlust.

**68 [LE-PM 436]****Radioligand-
bindungsdaten**

D_1 : 0.83 ± 0.15
 D_2 : 4 ± 1.9
 D_3 : 24.6 ± 6.4
 D_5 : 0.057 ± 0.06

**Calcium-Assay
Daten**

D_1 : 0.46 ± 0.36
 D_2 : 6.1 ± 4.8
 D_3 : -
 D_5 : 0.053 ± 0.02

**99 [LE-PM 452]****Radioligand-
bindungsdaten**

D_1 : 0.46 ± 0.22
 D_2 : 0.99 ± 0.02
 D_5 : -

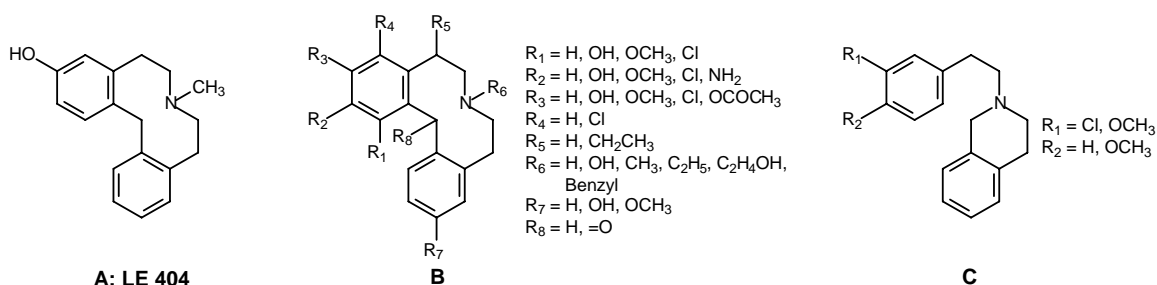
**Calcium-Assay
Daten**

D_1 : 6.8 ± 4.9
 D_2 : 0.13 ± 0.06
 D_5 : 1.6 ± 0.7

Abb. E.4: K_i -Werte der hochaffinen Dibenz[d,g]azecine **68** und **99**, bestimmt in Radioligandbindungsstudien und im Calcium-Assay.

F. Abstract

The purpose of this thesis was, based on the highly potent dopamine receptor ligand **LE 404** (**A**), to synthesize novel substituted dibenz[*d,g*]azecine derivatives (**B**) and parts of this structure (**C**), in order to determine the binding properties of these compounds by radioligand binding studies and a functional Ca^{2+} -assay. This should lead to structure activity relationships (SAR) of this new class of dopamine receptor antagonists, to novel tools in dopamine receptor research and to novel potential antipsychotic drugs with fewer side effects by realizing new receptor binding profiles at the different dopamine receptor subtypes.



Dibenz[*d,g*]azecines without substituents at the aromatic rings were prepared out of 1-phenyl-3,4-dihydroisoquinoline by quaternisation with bromoethanol and reduction - or reduction and treatment with 2-ethyloxirane, respectively -, cyclisation with polyphosphoric acid, quaternisation of the resulting dibenzo[*a,h*]quinolizines with alkylhalides or *m*-CPBA, and finally reductive ring cleavage by using Birch conditions.

Substituted derivatives were prepared *via* hydroxyethyl-benzamides by protection of the alcohol (if necessary), followed by a multistep procedure applying a Bischler-Napieralski-cyclisation using POCl_3 , yielding the corresponding dibenzo[*a,h*]quinolizines, quaternisation by alkylhalides and subsequent ring cleavage of the central C-N-bond under Birch conditions or by hydrogenolysis of the quaternary quinolizinium salts by H_2/PtO_2 . Also treatment with ethyl-chloroformate and conversion into a urethane by NaBH_3CN , followed by reduction leads to further azecines. Cleavage of quaternary quinolizinium salts performed with NaH/DMSO leads to novel azecines with a ketone moiety in position 14. Compound **C** could be obtained by reduction of the corresponding lactame derivatives. Evaluation of MS-data of all the novel dibenz[*d,g*]azecines synthesized and their relevant precursors yielded in a "dibenz[*d,g*]azecine-database" which showed to be very helpful in monitoring the synthesis and identification of actual and future target compounds.

Competitive radioligand binding studies and functional assays were performed at human cloned dopamine receptors (hD_1 , $\text{hD}_{2\text{L}}$, hD_3 and hD_5), stably expressed in HEK or CHO cell lines, respectively and resulted in the identification of numerous new potent antidopaminergic ligands with a strong correlation of affinities and substitution patterns. The most promising compound is the 4-chlorinated **LE 404** with subnanomolar affinities at the hD_1 - and picomolar affinities at the hD_5 -receptor subtype.

G. Experimenteller Teil

G.1 Experimenteller Teil, Synthesen

G.1.1 Allgemeine Angaben zu Materialien und Geräten

Dünnschichtchromatographie:

DC-Alufolien, Kieselgel 60 F₂₅₄, Firma Merck (Darmstadt)

Säulenchromatographie:

Kieselgel 60, Firma Merck (Darmstadt)

Chromatotron (Model 8924), Harrison Research, Palo Alto (CA, USA), mit 2 mm Silica Gel 60 PF-254 beschichtet

Schmelzpunktbestimmung:

Melting Point apparatus, Firma Gallenkamp (UK), nicht korrigiert

Elementaranalyse:

Vario EL III (CHNOS Elementaranalysator), Firma elementar Analysensysteme GmbH

Die Messungen wurden in der organischen Chemie, Universität Jena, durchgeführt.

Vario EL, Firma Hereus (Hanau)

Die Messungen wurden am Pharmazeutischen Institut, Universität Bonn, durchgeführt.

Molekularmassenbestimmung:

Atomgewichtstabelle von 1962 – bezogen auf ¹²C

Infrarotspektren:

Magna-IRTM FT-IR Spectrometer, System 550, Firma Nicolet (WI, USA)

¹H- und ¹³C-NMR-Spektren:

Avance 200, Avance 250 und Avance 400, Firma Bruker biospin (Karlsruhe)

Die Messungen wurden in der organischen und anorganischen Chemie, Universität Jena, durchgeführt.

Massenspektren:

Hochauflösende Masse: FinniganTM MAT 95 XL, Firma Thermo Electron Corporation (USA)

EI-Spektren: FinniganTM SSQ 710, Firma Thermo Electron Corporation (USA)

Die Messungen wurden in der anorganischen Chemie, Universität Jena, durchgeführt.

GC/MS-Spektren:

GC/MS: G 1800C, GCD Plus System, Firma Hewlett Packard (USA)

Detektor-Typ: Elektronen-Ionisations-Detektor

Säule: HP-5ms (Länge: 30m, ID: 0.25 mm, Film: 0.25 µm), Firma J & W Scientific (CA, USA)

Alle Messungen wurden unter folgenden Bedingungen durchgeführt:

Injektortemperatur: 250°C; Detektortemperatur: 280°C

Anfangstemperatur: 100°C für 3 min., Heizrate: 10°C/min., Endtemperatur: 280°C für 19min., Gesamtlaufzeit: 40min.

Heliumdruck: 0.9 bar

G.1.2 Monographien

1-Phenyl-3,4-dihydroisochinolin (23)

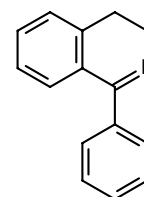
216,8 g (1,0 mol) Zinntetrachlorid werden nach van Binst und Baert [*van Binst, 1975*] bei Raumtemperatur in einem 1l-Dreihalskolben, der mit einem Kühler, einem Stopfen und mittig mit einem KPG-Rührer verbunden ist, mit 103,5 g (1,0 mol) frisch destilliertem Benzonitril (**22**) unter Rühren versetzt. Der entstandene Komplex wird bei 100°C zum Schmelzen erhitzt. Anschließend werden innerhalb 1 min. 140,1 g (1 mol) 2-Phenylethylchlorid (**21**) hinzugegossen und 3 h bei 120°C gerührt. Nach dem Abkühlen wird das Reaktionsgemisch mit ca. 700 ml 20%iger Natriumhydroxidlösung versetzt und bis zum Absetzen eines braunen Öls gerührt. Das Öl wird abgetrennt und bei 220°C Ölbadtemperatur unter Luftkühlung destilliert.

Ausbeute: 111,9 g, 54 %, hellgelbes Öl

Siedepunkt: 140°C/3,3² mbar, Lit.: 125°C/0,3 mbar [*Schweikert, 1999*]

IR (KBr, cm⁻¹): 3100-2980, 1690-1650, 1640-1540

MG: C₁₅H₁₃N (207,27 g/mol)



¹H-NMR (250 MHz, CDCl₃):

δ (ppm)	Multiplizität	Integration	Zuordnung
2.7-3.0	t (J = 7.6 Hz)	2H	Ph-CH ₂
3.8-4.0	t (J = 7.6 Hz)	2H	N-CH ₂
7.2-7.8	m	9H	arom.

2-(2-Hydroxyethyl)-1-phenyl-3,4-dihydroisochinoliniumbromid (24)

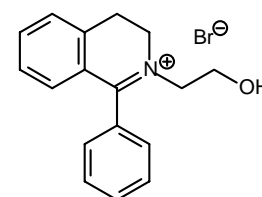
117,6 g (567,7 mmol) 1-Phenyl-3,4-dihydroisochinolin (**23**) werden in 250 ml trockenem Toluol gelöst und mit 165,6 g (1,28 mol) 2-Bromethanol versetzt. Es wird unter Argon bei 90°C 25 h lang gerührt, abgekühlt und anschließend im Vakuum abgedampft. Der Rückstand wird aus Aceton umkristallisiert, die erhaltenen weißen Kristalle abfiltriert und im Vakuum getrocknet.

Ausbeute: 128,3 g, 72 %, weiße Kristalle

Schmelzpunkt: 213°C, Lit.: 212°C [*Schweikert, 1999*]

IR (KBr, cm⁻¹): 3258, 2920, 1631, 1569, 1336, 1076

MG: C₁₇H₁₈BrNO (332,24 g/mol)



Elementaranalyse:

gemessen:

C(%)= 61,55; H(%)= 5,48; N(%)= 4,24

berechnet für C₁₇H₁₈BrNO:

C(%)= 61,50; H(%)= 5,50; N(%)= 4,20

¹H-NMR (250 MHz, CDCl₃):

δ (ppm)	Multiplizität	Integration	Zuordnung
3.53-3.64	t (J = 7.6 Hz)	2H	Ph-CH ₂
3.95-4.06	mc	2H	CH ₂ -OH
4.12-4.18	dd (J = 4.3 Hz)	2H	CH ₂ -CH ₂ -OH
4.60-4.69	mc (J = 4.3, 7.7 Hz)	2H	Ph-CH ₂ -CH ₂
5.24-5.33	t	1H	OH
6.96-7.02	dd	1H	arom.

δ (ppm)	Multiplizität	Integration	Zuordnung
7.26-7.34	mc ($J = 0.6$ Hz)	1H	arom.
7.41-7.47	dd ($J = 0.6$ Hz)	1H	arom.
7.56-7.74	m	6H	arom.

2-(2-Hydroxyethyl)-1-phenyl-1,2,3,4-tetrahydroisochinolin (25)

128,3 g (386,4 mmol) 2-(2-Hydroxyethyl)-1-phenyl-3,4-dihydroisochinoliniumbromid (**24**) werden in 800 ml abs. Methanol gelöst und 51,2 g (1,35 mol) Natriumborhydrid in kleinen Portionen zugegeben. Nach vollständigem Abklingen der Wasserstoffentwicklung wird das org. Lösungsmittel abgedampft, der Rückstand mit 300 ml 2%iger Natriumhydroxidlösung versetzt, mit 3x200 ml Ether extrahiert, die org. Phase abgetrennt und über Magnesiumsulfat getrocknet. Nach Filtrieren der Etherphase und Abdampfen wird der weiße kristalline Feststoff im Vakuum getrocknet.

Ausbeute: 94,2 g, 96 %, weiße Kristalle

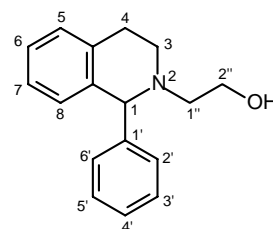
Schmelzpunkt: 80°C, Lit.: 69,5°C [Vlaeminck, 1981]

Lit.: 78-80°C [Germani, 1971]

R_f -Wert: 0,35 ($\text{CHCl}_3/5\%$ MeOH)

IR (KBr, cm^{-1}): 3519, 2980, 2830, 1488, 1447, 1062, 746, 702

MG: $\text{C}_{17}\text{H}_{19}\text{NO}$ (253,34 g/mol)



Elementaranalyse:

gemessen:

C(%) = 80,60; H(%) = 7,63; N(%) = 5,53

berechnet für $\text{C}_{17}\text{H}_{19}\text{NO}$:

C(%) = 80,60; H(%) = 7,60; N(%) = 5,50

GC/MS: $t_R = 17.28$ min.

m/z (% rel. Int.) = 253 [$\text{M}]^{+*}$ (1.2), 234(0.1), 222(100.0), 208(2.0), 193(2.8), 176(24.8), 165(7.0), 152(2.4), 130(7.1), 115(8.7), 103(2.5), 91(44.5), 77(3.4), 65(1.1), 51(1.7)

$^1\text{H-NMR}$ (250 MHz, CDCl_3):

δ (ppm)	Multiplizität	Integration	Zuordnung
2.48-2.54	mc ($^2J = 13$ Hz)	1H	$\text{CH-CH}_2\text{-OH}$ (1'')
2.61-2.68	mc ($^2J = 12$ Hz)	1H	$\text{Ph-CH}_2\text{-CH}$ (3)
2.73-2.80	mc ($^2J = 13$ Hz)	1H	$\text{CH-CH}_2\text{-OH}$ (1'')
2.86-2.93	mc ($^2J = 16.4$ Hz)	1H	Ph-CH (4)
3.03-3.11	mc ($^2J = 16.4$ Hz)	1H	Ph-CH (4)
3.19-3.26	mc ($^2J = 12$ Hz)	1H	$\text{Ph-CH}_2\text{-CH}$ (3)
3.40-3.46	mc ($^2J = 11$ Hz)	1H	CH-OH (2'')
3.63-3.70	mc ($^2J = 11$ Hz)	1H	CH-OH (2'')
4.65	s	1H	Ph-CH-Ph
6.69-6.73	d ($J = 7.9$ Hz)	1H	arom. (5)
6.98-7.03	td ($J = 1.9, 7.9$ Hz)	1H	arom. (6)
7.09-7.16	m	2H	arom. (7, 8)
7.19-7.22	m	2H	arom. (2', 6')
7.22-7.27	m ($J = 3.2$ Hz)	1H	arom. (4')
7.27-7.32	m ($J = 3.2$ Hz)	2H	arom. (3', 5')

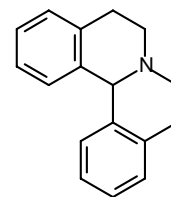
¹³C-NMR (CDCl₃):

δ (ppm)	Zuordnung	δ (ppm)	Zuordnung
28.49	Ph-CH ₂ (4)	128.49	arom. (3', 5')
46.65	Ph-CH ₂ -CH ₂ (3)	128.53	arom. (7)
55.29	CH ₂ -CH ₂ -OH (1'')	128.97	arom. (5)
58.01	CH ₂ -OH (2'')	129.73	arom. (2', 6')
68.49	Ph-CH-Ph (1)	134.27	arom. (4a)
125.90	arom. (6)	137.45	arom. (1')
126.35	arom. (8)	143.11	arom. (8a)
127.64	arom. (4')		

5,6,8,9-Tetrahydro-13bH-dibenzo[a,h]chinolizin (26)

1,2 g (4,7 mmol) 2-(2-Hydroxyethyl)-1-phenyl-1,2,3,4-tetrahydroisochinolin (**25**) werden mit 25 g Polyphosphorsäure 6 h bei 160°C unter Rühren erhitzt. Das ca. 80°C heiße Gemisch wird mit ca. 500 g Eis versetzt und bis zum Schmelzen des Eises gerührt. Anschliessend extrahiert man mit 50 ml Ether und verwirft die Etherphase. Die wässrige Phase wird mit 10%iger Natriumhydroxidlösung neutralisiert (pH 7-8), mit 3x50 ml Ether extrahiert, der Ether im Vakuum abgedampft und der Rückstand getrocknet.

Ausbeute: 0,46 g, 42 %, hellbrauner Feststoff
 Schmelzpunkt: 75°C, Lit.: 76°C [Schweikert, 1999]
 R_f-Wert: 0,47 (CHCl₃/5% MeOH)
 IR (KBr, cm⁻¹): 2935, 2857, 1485, 1452, 740
 MG: C₁₇H₁₇N (235,32 g/mol)



Elementaranalyse:

gemessen: C(%)= 85,42; H(%)= 7,36; N(%)= 5,84
 berechnet für C₁₇H₁₇N: C(%)= 85,80; H(%)= 7,30; N(%)= 6,00

GC/MS: t_R= 17.35 min.

m/z (% rel. Int.) = 234 [M-H]⁺ (100.0), 217(4.4), 206(14.0), 191(2.8), 178(6.2), 165(2.2), 130(7.0), 115(6.8), 105(7.7), 91(2.7), 77(5.2), 63(1.5), 51(1.8)

¹H-NMR (250 MHz, CDCl₃):

δ (ppm)	Multiplizität	Integration	Zuordnung
2.85-2.97	mc	4H	2x Ph-CH ₂
3.10-3.17	mc	2H	2x Ph-CH ₂ -CH
3.18-3.26	mc	2H	2x Ph-CH ₂ -CH
5.08	s	1H	Ph-CH-Ph
7.10-7.21	m	8H	arom.

5,6,8,9-Tetrahydro-13bH-dibenzo[a,h]chinolizinium-N-oxid (39)

Zu 1 g (4,25 mmol) 5,6,8,9-Tetrahydro-13bH-dibenzo[a,h]chinolizin (**26**), gelöst in 20 ml CHCl₃, werden bei 0°C eine Lösung von 0,73 g (4,25 mmol) m-Chlorperbenzoesäure in 20 ml CHCl₃ zugetropft. Während der 3¹/₂stündigen Reaktionsdauer wird langsam auf Raumtemperatur erwärmt. Die gesamte Lösung wird säulenchromatographisch über basischem Aluminiumoxid mit CHCl₃ vom Edukt getrennt. Anschließend wird das Produkt mit

CHCl₃/EtOH (3/1) eluiert und das Lösungsmittel abgedampft. Der Rückstand wird aus EtOH/Ether (1/1) umkristallisiert und im Vakuum getrocknet.

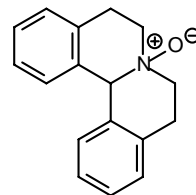
Ausbeute: 0,6 g, 56 %, weiße Kristalle

Schmelzpunkt: 151°C

R_f-Wert: 0,20 (MeOH)

IR (KBr, cm⁻¹): 3332, 1683, 1486, 1447, 775

MG: C₁₇H₁₇NO (251,32 g/mol)



Elementaranalyse:

gemessen:

C(%)= 72,61; H(%)= 7,33; N(%)= 4,89

berechnet für C₁₇H₁₇NO x 5H₂O: C(%)= 72,60; H(%)= 7,30; N(%)= 5,00

¹H-NMR (500 MHz, MeOD):

δ (ppm)	Multiplizität	Integration	Zuordnung
3.13-3.22	dt (<i>J</i> = 6.3 Hz)	2H	Ph-CH ₂
3.44-3.52	dt (<i>J</i> = 6.9 Hz)	2H	Ph-CH ₂
3.70-3.85	mc (<i>J</i> = 6.6 Hz)	4H	Ph-CH ₂ -CH ₂
5.50	s	1H	Ph-CH-Ph
7.18-7.22	d (<i>J</i> = 7.6 Hz)	2H	arom., H4, H10
7.27-7.32	ddd (<i>J</i> = 7.9 Hz)	2H	arom., H2, H12
7.33-7.39	m (<i>J</i> = 7.6, 7.9 Hz)	4H	arom., H1, H3, H11, H13

5,6,7,8,9,14-Hexahydrodibenz[d,g]azecin (34)

In einen mit 0,3 g (1,2 mmol) 5,6,8,9-Tetrahydro-13*bH*-dibenzo[*a,h*]chinolizinium-N-oxid (**39**), suspendiert in 3 g trockenem THF, versetzten 100ml-Dreihalskolben, der mit einem Gaseinleitungsrohr, einem Luftballon zur Druckregulation und einem Stopfen verschlossen ist, werden unter Kühlung mit flüssigem Stickstoff ca. 40 ml Ammoniak einkondensiert. Anschließend wird das Kühlbad entfernt und der Ansatz bei ca. -40°C unter Stickstoffatmosphäre zügig mit kleinen Natriumstücken (ca. 4x4x4mm) versetzt, bis eine tiefblaue Farbe bestehen bleibt. Nach Beenden der Zugabe wird die Reaktion nach 20 sec. durch Hinzufügen von gesättigter Ammoniumchloridlösung, bis zum Verschwinden der Färbung, abgebrochen. Man dampft den Ammoniak bei Raumtemperatur unter Stickstoffatmosphäre ab und nimmt den Rückstand in 20 ml Wasser auf, extrahiert mit 3x30 ml Chloroform, trocknet die org. Phase über Magnesiumsulfat und dampft ab. Der ölige Rückstand wird über Kieselgel 60 mit CHCl₃/MeOH (85/15) säulenchromatographisch gereinigt.

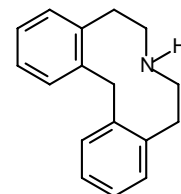
Ausbeute: 56 mg, 20 %, weißer Feststoff

Schmelzpunkt: 153°C

R_f-Wert: 0,43 (CHCl₃/10%MeOH)

IR (KBr, cm⁻¹): 3434, 2933, 1473, 1447, 1200

MG: C₁₇H₁₉N (237,34 g/mol)



Elementaranalyse:

gemessen:

C(%)= 83,75; H(%)= 8,06; N(%)= 5,71

berechnet für C₁₇H₁₉N x 1/3H₂O: C(%)= 83,91; H(%)= 8,15; N(%)= 5,76

GC/MS: t_R = 17.66 min

m/z (% rel. Int.) = 237 [M]⁺ (25.0), 222(5.7), 205(12.6), 193(36.8), 179(55.2), 165(16.7), 152(7.2), 146(12.3), 132(100.0), 115(21.7), 104(10.6), 91(10.6), 77(7.5), 65(3.7), 57(7.8), 51(3.5)

¹H-NMR (500 MHz, [D₆]-DMSO):

δ (ppm)	Multiplizität	Integration	Zuordnung
2.80-2.85	mc	4H	Ph-CH ₂
2.94-2.99	mc	4H	Ph-CH ₂ -CH ₂
4.08	s	2H	Ph-CH ₂ -Ph
7.05-7.13	mc	6H	arom., H2-4, H10-12
7.49-7.55	mc	2H	arom., H1, H13

¹³C-NMR (CDCl₃):

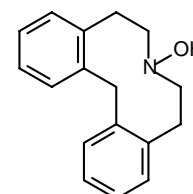
δ (ppm)	Zuordnung	δ (ppm)	Zuordnung
34.07	Ph-CH ₂	130.26	arom.
35.62	Ph-CH ₂ -Ph	130.53	arom.
53.04	Ph-CH ₂ -CH ₂	137.43	arom., quart.
126.72	arom.	140.70	arom., quart.
126.93	arom.		

5,8,9,14-Tetrahydrodibenz[*d,g*]azecin-7(6*H*)-ol (40)

In einen mit 1 g (3,98 mmol) 5,6,8,9-Tetrahydro-13*bH*-dibenzo[*a,h*]chinolizinium-N-oxid (**39**), suspendiert in 10 g trockenem THF, versetzten 200ml-Dreihalskolben, der mit einem Gaseinleitungsrohr, einem Luftballon zur Druckregulation und einem Stopfen verschlossen ist, werden unter flüssiger Stickstoffkühlung ca. 100 ml Ammoniak einkondensiert. Anschließend wird das Kühlbad entfernt und der Ansatz bei ca. -40°C unter Stickstoffatmosphäre zügig mit kleinen Natriumstücken (ca. 4x4x4mm) versetzt, bis eine tiefblaue Farbe bestehen bleibt. Nach Beenden der Zugabe wird die Reaktion nach 10 min. durch Hinzufügen von gesättigter Ammoniumchloridlösung, bis zum Verschwinden der Färbung, abgebrochen. Man dampft den Ammoniak bei Raumtemperatur unter Stickstoffatmosphäre ab und nimmt den Rückstand in 50 ml Wasser auf, extrahiert mit 3x40 ml Ether, trocknet die org. Phase über Magnesiumsulfat und dampft ab. Umkristallisation aus wässrigem Ethanol führt zu farblosen Kristallen.

Ausbeute: 0,26 g, 26 %, farblose Kristalle

Schmelzpunkt: 140°C

 R_f -Wert: 0,84 (EtOH)IR (KBr, cm⁻¹): 3254, 3010, 2842, 1490, 1442MG: C₁₇H₁₉NO (253,34 g/mol)

Elementaranalyse:

gemessen: C(%) = 80,71; H(%) = 7,55; N(%) = 5,53

berechnet für C₁₇H₁₉NO: C(%) = 80,60; H(%) = 7,56; N(%) = 5,53

MS (EI):

m/z (% rel. Int.) = 253 [M]⁺ (54.7), 236(100.0), 207(10.2), 193(55.5), 178(78.1), 165(24.2), 144(4.7), 132(46.1), 115(31.3), 105(65.6), 91(20.3), 77(10.9), 65(5.5)

$^1\text{H-NMR}$ (250 MHz, $[\text{D}_6]\text{-DMSO}$):

δ (ppm)	Multiplizität	Integration	Zuordnung
2.84-2.96	mc	4H	Ph-CH ₂
3.10-3.20	mc	4H	Ph-CH ₂ -CH ₂
4.15	s	2H	Ph-CH ₂ -Ph
7.15-7.23	mc	6H	arom., H2-4, H10-12
7.38-7.50	mc	2H	arom., H1, H13
8.28	s	1H	OH

$^{13}\text{C-NMR}$, ermittelt über HMBC + HMQC ($[\text{D}_6]\text{-DMSO}$):

δ (ppm)	Zuordnung	δ (ppm)	Zuordnung
32.5	Ph-CH ₂	126.9	arom., C2, C3, C11, C12
37.4	Ph-CH ₂ -Ph	131.4	arom., C1, C4, C10, C13
67.5	Ph-CH ₂ -CH ₂	141.7	arom., C4a, C9a, C13a, C14a

7-Benzyl-5,6,7,8,9,14-hexahydrodibenz[*d,g*]azecin-Hydrochlorid (42)

0,1 g (0,42 mmol) 5,6,7,8,9,14-Hexahydrodibenz[*d,g*]azecin (**34**) werden in 20 ml trockenem Toluol gelöst und mit 0,1 g Kaliumcarbonat versetzt. Anschließend wird unter Rühren tropfenweise 0,068 g (0,4 mmol) Benzylbromid zugegeben und 20 h unter Rückfluss erhitzt. Man filtriert und dampft die org. Phase ab. Der ölige Rückstand wird in wenig Ether gelöst und mit etherischer HCl-Lösung versetzt. Der weiße Niederschlag wird abfiltriert und im Vakuum getrocknet.

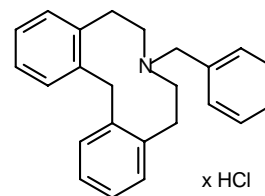
Ausbeute: 32 mg, 20 %, weißer Feststoff

Schmelzpunkt: 251°C

R_f -Wert: 0,67 (EtOH) (Base)

IR (KBr, cm^{-1}): 3422, 2942, 2323, 1480, 1452, 750

MG: $\text{C}_{24}\text{H}_{26}\text{ClN}$ (363,92 g/mol)



Elementaranalyse:

gemessen: C(%) = 77,58; H(%) = 7,30; N(%) = 3,64

berechnet für $\text{C}_{24}\text{H}_{26}\text{ClN} \times \frac{2}{5}\text{H}_2\text{O}$: C(%) = 77,67; H(%) = 7,28; N(%) = 3,77

GC/MS: t_R = 23.26 min.

m/z (% rel. Int.) = 327 [$\text{M}]^{+*}$ (8.8), 312(2.5), 236(51.2), 222(22.6), 205(5.8), 193(43.0), 178(50.0), 165(12.4), 146(17.6), 132(26.1), 115(20.8), 105(28.6), 91(100.0), 77(8.9), 65(14.3), 51(3.8)

$^1\text{H-NMR}$ (250 MHz, $[\text{D}_6]\text{-DMSO}$):

δ (ppm)	Multiplizität	Integration	Zuordnung
3.30-3.55	mc	8H	Ph-CH ₂ -CH ₂
4.05-4.24	d (J = 15.3 Hz)	2H	Ph-CH ₂ -Ph
4.34-4.45	d (J = 5.53 Hz)	2H	N-CH ₂ -Ph
7.02-7.27	mc	6H	arom.
7.39-7.55	mc	5H	arom.
7.68-7.79	mc	2H	arom.
11.10-11.40	brs	1H	N-H ⁺

¹³C-NMR-DEPT ([D₆]-DMSO):

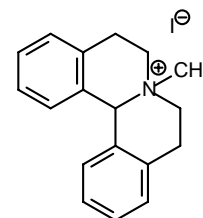
δ (ppm)	Zuordnung
27.11	2x Ph-CH ₂
35.12	Ph-CH ₂ -Ph
52.22	2x Ph-CH ₂ -CH ₂
58.72	N-CH ₂
126.91	arom., C2, C12
127.15	arom., C3, C11

δ (ppm)	Zuordnung
128.80	arom., C1', C6'
129.50	arom., C4'
130.31	arom., C2', C5'
130.67	arom., C1, C13
131.31	arom., C4, C10

7-Methyl-5,6,8,9-tetrahydro-13bH-dibenzo[a,h]chinoliziniumiodid (43)

Zu einer Lösung von 3,0 g (12,8 mmol) 5,6,8,9-Tetrahydro-13bH-dibenzo[a,h]chinolizin (**26**) in 50 ml trockenem Aceton gibt man 3,2 g (51 mmol) Methyljodid und rührt 20 h bei Raumtemperatur. Der entstandene weiße Feststoff wird abfiltriert, mit wenig Aceton gewaschen und im Vakuum getrocknet.

Ausbeute: 4 g, 84 %, weißer Feststoff
 Schmelzpunkt: 268°C, Lit.: 258°C [Schweikert, 1999]
 IR (KBr, cm⁻¹): 3460, 2881, 1497, 1440, 929, 775
 MG: C₁₈H₂₀IN (377,26 g/mol)



Elementaranalyse:

gemessen: C(%)= 57,70; H(%)= 5,38; N(%)= 3,60
 berechnet für C₁₈H₂₀IN: C(%)= 57,30; H(%)= 5,30; N(%)= 3,70

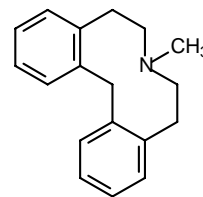
¹H-NMR (250 MHz, [D₆]-DMSO):

δ (ppm)	Multiplizität	Integration	Zuordnung
3.25-3.35	mc	4H	Ph-CH ₂
3.40	s	3H	N-CH ₃
3.80-3.96	mc	4H	Ph-CH ₂ -CH ₂
6.04	s	1H	Ph-CH-Ph
7.19-7.26	d	2H	arom.
7.36-7.52	m	6H	arom.

7-Methyl-5,6,7,8,9,14-hexahydrodibenz[d,g]azecin (44)

In einen mit 3,0 g (7,9 mmol) 7-Methyl-5,6,8,9-tetrahydro-13bH-dibenzo[a,h]chinoliziniumiodid (**43**) versetzten 100ml-Dreihalskolben, der mit einem Gaseinleitungsrohr, einem Luftballon zur Druckregulation und einem Stopfen verschlossen ist, werden unter Kühlung mit flüssigem Stickstoff ca. 50 ml Ammoniak einkondensiert. Anschließend wird das Kühlbad entfernt und der Ansatz bei ca. -40°C unter Stickstoffatmosphäre zügig mit kleinen Natriumstücken (ca. 4x4x4mm) versetzt, bis eine tiefblaue Farbe bestehen bleibt. Nach Beenden der Zugabe wird die Reaktion nach 20 min. durch Hinzufügen von gesättigter Ammoniumchloridlösung, bis zum Verschwinden der Färbung, abgebrochen. Man dampft den Ammoniak bei Raumtemperatur unter Stickstoffatmosphäre ab und nimmt den Rückstand in 50 ml Wasser auf, extrahiert mit 3x50 ml Ether, trocknet die org. Phase über Magnesiumsulfat und dampft ab. Das Rohprodukt wird säulenchromatographisch über Kieselgel mit Ether gereinigt. Der entstandene Feststoff wird im Vakuum getrocknet.

Ausbeute: 0,29 g, 15 %, weißer Feststoff
 Schmelzpunkt: 60°C, Lit.: 62°C [Schweikert, 1999]
 R_f -Wert: 0,67 (CH_2Cl_2 /80% MeOH)
 IR (KBr, cm^{-1}): 2942, 2790, 1493, 1445, 1054, 757
 MG: $\text{C}_{18}\text{H}_{21}\text{N}$ (251,37 g/mol)



Elementaranalyse:

gemessen: $\text{C}(\%) = 85,71$; $\text{H}(\%) = 8,31$; $\text{N}(\%) = 5,59$
 berechnet für $\text{C}_{18}\text{H}_{21}\text{N}$: $\text{C}(\%) = 86,00$; $\text{H}(\%) = 8,40$; $\text{N}(\%) = 5,60$

GC/MS: $t_R = 16.42$ min.

m/z (% rel. Int.) = 251 [$\text{M}]^+$ (30.6), 236(16.7), 222(3.6), 205(12.9), 193(82.5), 179(100.0), 165(20.8), 146(95.6), 133(7.7), 115(33.8), 103(8.3), 91(15.5), 77(9.1), 71(24.9), 58(31.5)

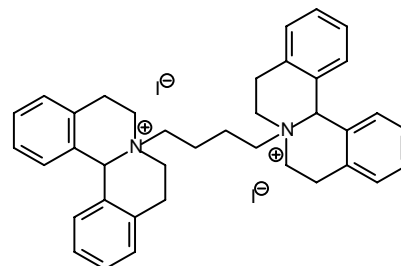
$^1\text{H-NMR}$ (250 MHz, CDCl_3):

δ (ppm)	Multiplizität	Integration	Zuordnung
2.2	s	3H	N-CH ₃
2.5-2.7	mc	8H	Ph-CH ₂ -CH ₂
4.4	s	2H	Ph-CH ₂ -Ph
7.02-7.07	mc ($J = 9.1$ Hz)	2H	arom., H4, H10
7.09-7.14	mc ($J = 9.1$ Hz)	4H	arom., H2, H3, H11, H12
7.25-7.29	mc ($J = 9.1$ Hz)	2H	arom., H1, H13

7,7'-Butylen-bis-5,6,8,9,13b,13c-hexahydro-4a-H-isochino[1,2-a]isochinoliniumdiiodid (45)

2,0 g (8,5 mmol) 5,6,8,9-Tetrahydro-13bH-dibenzo[*a,h*]chinolizin (**26**), in 50 ml trockenem Aceton gelöst, werden mit 1,3 g (4,1 mmol) Diiodbutan versetzt und unter Argon bei 60°C 24 h gerührt. Der entstandene weiße Feststoff wird abfiltriert, mit Aceton gewaschen und im Vakuum getrocknet.

Ausbeute: 1,5 g, 46 %, weißer Feststoff
 Schmelzpunkt: 246°C
 IR (KBr, cm^{-1}): 3440-3430, 2862, 1494, 1448, 755
 MG: $\text{C}_{38}\text{H}_{42}\text{I}_2\text{N}_2$ (780,56 g/mol)



Elementaranalyse:

gemessen: $\text{C}(\%) = 58,60$; $\text{H}(\%) = 5,34$; $\text{N}(\%) = 3,33$
 berechnet für $\text{C}_{38}\text{H}_{42}\text{I}_2\text{N}_2$: $\text{C}(\%) = 58,50$; $\text{H}(\%) = 5,40$; $\text{N}(\%) = 3,60$

$^1\text{H-NMR}$ (200 MHz, $[\text{D}_6]$ -DMSO):

δ (ppm)	Multiplizität	Integration	Zuordnung
1.70-2.00	bs	4H	N-CH ₂ -CH ₂ -CH ₂ -CH ₂ -N
3.10-3.25	m	8H	Ph-CH ₂
3.35-3.50	m	4H	N-CH ₂ -CH ₂ -CH ₂ -CH ₂ -N
3.58-3.91	m	8H	Ph-CH ₂ -CH ₂
5.91-6.02	s	2H	Ph-CH-Ph
7.03-7.15	d	4H	arom., H4, H4', H10, H10'
7.26-7.48	mc	12H	arom.

7,7'-Butylen-bis-5,6,7,8,9,14-hexahydrodibenz[*d,g*]azecin (46)

In einen mit 1,0 g (1,28 mmol) 7,7'-Butylen-bis-5,6,8,9,13b,13c-hexahydro-4a-*H*-isochino[1,2-*a*]isochinoliniumdiiiodid (**45**) versetzten 100ml-Dreihalskolben, der mit einem Gaseinleitungsrohr, einem Luftballon zur Druckregulation und einem Stopfen verschlossen ist, werden unter Kühlung mit flüssigem Stickstoff ca. 50 ml Ammoniak einkondensiert. Anschließend wird das Kühlbad entfernt und der Ansatz bei ca. -40°C unter Stickstoffatmosphäre zügig mit kleinen Natriumstücken (ca. 4x4x4mm) versetzt, bis eine tiefblaue Farbe bestehen bleibt. Nach Beenden der Zugabe wird die Reaktion nach 20 min. durch Hinzufügen von gesättigter Ammoniumchloridlösung, bis zum Verschwinden der Färbung, abgebrochen. Man dampft den Ammoniak bei Raumtemperatur unter Stickstoffatmosphäre ab und nimmt den Rückstand in 50 ml Wasser auf, extrahiert mit 3x50 ml Ether, trocknet die org. Phase über Magnesiumsulfat und dampft ab. Umkristallisation des Rückstands aus Ether/Ethanol führt zu einem weißen Feststoff, der im Vakuum getrocknet wird.

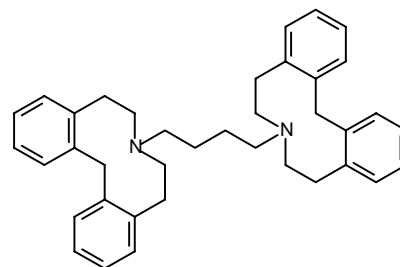
Ausbeute: 0,23 g, 33 %, weißer Feststoff

Schmelzpunkt: 183°C

R_f -Wert: 0,95 (CHCl_3 /5% MeOH)

IR (KBr, cm^{-1}): 3010, 2918, 2792, 1488, 1446, 756

MG: $\text{C}_{38}\text{H}_{44}\text{N}_2$ (528,77 g/mol)



Elementaranalyse:

gemessen:

C(%)= 85,94; H(%)= 8,37; N(%)= 5,16

berechnet für $\text{C}_{38}\text{H}_{44}\text{N}_2$:

C(%)= 86,30; H(%)= 8,40; N(%)= 5,30

^1H -NMR (250 MHz, CDCl_3):

δ (ppm)	Multiplizität	Integration	Zuordnung
0.7-0.9	mc	4H	N-CH ₂ -CH ₂ -CH ₂ -CH ₂ -N
1.9-2.1	mc	4H	N-CH ₂ -CH ₂ -CH ₂ -CH ₂ -N
2.4-2.6	s	16H	Ph-CH ₂ -CH ₂
4.3-4.4	s	4H	Ph-CH-Ph
6.9-7.1	m	12H	arom.
7.15-7.22	m	4H	arom., H1, H1', H13, H13'

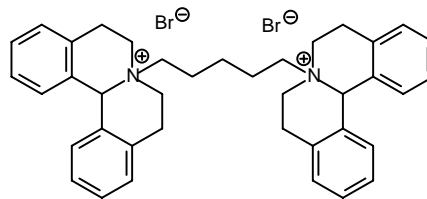
^{13}C -NMR (CDCl_3):

δ (ppm)	Zuordnung	δ (ppm)	Zuordnung
25.18	N-CH ₂ -CH ₂ -CH ₂ -CH ₂ -N	126.16	arom.
35.24	4x Ph-CH ₂	130.29	arom.
38.30	2x Ph-CH ₂ -Ph	130.64	arom.
59.26	N-CH ₂ -CH ₂ -CH ₂ -CH ₂ -N	141.09	arom.
59.47	4x Ph-CH ₂ -CH ₂	141.27	arom.
126.03	arom.		

7,7'-Pentylen-bis-5,6,8,9,13b,13c-hexahydro-4a-*H*-isochino[1,2-*a*]isochinolinium-dibromid (45a)

2,5 g (10,6 mmol) 5,6,8,9-Tetrahydro-13b-*H*-dibenzo[*a,h*]chinolizin (**26**), in 50 ml trockenem Toluol gelöst, werden mit 1,2 g (5,2 mmol) Dibrompentan versetzt und unter Argon und Rückfluss 26 h gerührt. Der entstandene weiße Feststoff wird abfiltriert, aus MeOH/Wasser umkristallisiert und im Vakuum getrocknet.

Ausbeute: 1,6 g, 22 %, weißer Feststoff
 Schmelzpunkt: 203°C
 IR (KBr, cm^{-1}): 3421, 2980-2880, 1497, 1440, 756
 MG: $\text{C}_{39}\text{H}_{44}\text{Br}_2\text{N}_2$ (700,59 g/mol)



Elementaranalyse:

gemessen: C(%)= 62,44; H(%)= 6,14; N(%)= 3,60
 berechnet für $\text{C}_{39}\text{H}_{44}\text{Br}_2\text{N}_2$: C(%)= 62,90; H(%)= 6,30; N(%)= 4,00

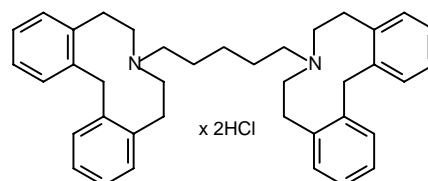
$^1\text{H-NMR}$ (250 MHz, $[\text{D}_6]$ -DMSO):

δ (ppm)	Multiplizität	Integration	Zuordnung
1.3-1.5	m	2H	N-CH ₂ -CH ₂ -CH ₂ -CH ₂ -CH ₂ -N
1.8-2.0	m	4H	N-CH ₂ -CH ₂ -CH ₂ -CH ₂ -CH ₂ -N
3.0-3.3	m	8H	Ph-CH ₂
3.4-3.5	m	4H	N-CH ₂ -CH ₂ -CH ₂ -CH ₂ -CH ₂ -N
3.6-4.0	m	8H	Ph-CH ₂ -CH ₂
5.9-6.1	s	2H	Ph-CH-Ph
7.0-7.2	d	4H	arom., H4, H4', H10, H10'
7.3-7.5	mc	12H	arom.

7,7'-Pentyl-bis-5,6,7,8,9,14-hexahydrodibenz[d,g]azecin-Dihydrochlorid (46a)

In einen mit 0,5 g (0,71 mmol) 7,7'-Pentyl-bis-5,6,8,9,13b,13c-hexahydro-4a-*H*-isochino[1,2-*a*]isochinoliniumdiiodid (**45a**) versetzten 100ml-Dreihalskolben, der mit einem Gaseinleitungsrohr, einem Luftballon zur Druckregulation und einem Stopfen verschlossen ist, werden unter Kühlung mit flüssigem Stickstoff ca. 50 ml Ammoniak einkondensiert. Anschließend wird das Kühlbad entfernt und der Ansatz bei ca. -40°C unter Stickstoffatmosphäre zügig mit kleinen Natriumstücken (ca. 4x4x4mm) versetzt, bis eine tiefblaue Farbe bestehen bleibt. Nach Beenden der Zugabe wird die Reaktion nach 20 min. durch Hinzufügen von gesättigter Ammoniumchloridlösung, bis zum Verschwinden der Färbung, abgebrochen. Man dampft den Ammoniak bei Raumtemperatur unter Stickstoffatmosphäre ab und nimmt den Rückstand in 50 ml Wasser auf, extrahiert mit 3x50 ml Ether, trocknet die org. Phase über Magnesiumsulfat und dampft ab. Der ölige Rückstand wird in wenig Ether aufgenommen, mit etherischer HCl-Lösung versetzt, der Niederschlag filtriert und aus EtOH/Ether umkristallisiert. Der entstandene weiße Feststoff wird im Vakuum getrocknet.

Ausbeute: 0,14 g, 32 %, weißer Feststoff
 Schmelzpunkt: 267°C
 R_f -Wert: 0,53 (CH_2Cl_2 /80% MeOH) (Base)
 IR (KBr, cm^{-1}): 3408, 2945, 2598, 1632, 1500, 1455, 758
 MG: $\text{C}_{39}\text{H}_{48}\text{Cl}_2\text{N}_2$ (615,73 g/mol)



Elementaranalyse:

gemessen: C(%)= 72,28; H(%)= 8,00; N(%)= 4,23
 berechnet für $\text{C}_{39}\text{H}_{48}\text{Cl}_2\text{N}_2 \times \frac{5}{3} \text{H}_2\text{O}$: C(%)= 72,54; H(%)= 8,01; N(%)= 4,34

¹H-NMR (250 MHz, CDCl₃):

δ (ppm)	Multiplizität	Integration	Zuordnung
0.45-0.55	mc	2H	N-CH ₂ -CH ₂ -CH ₂ -CH ₂ -CH ₂ -N
0.9-1.0	m	4H	N-CH ₂ -CH ₂ -CH ₂ -CH ₂ -CH ₂ -N
2.1-2.2	mc	4H	N-CH ₂ -CH ₂ -CH ₂ -CH ₂ -CH ₂ -N
2.6-2.8	mc	16H	Ph-CH ₂ -CH ₂
4.4	s	4H	Ph-CH ₂ -Ph
7.0-7.2	mc	12H	arom.
7.3-7.4	mc	4H	arom., H1, H1', H13, H13'

¹³C-NMR ([D₆]-DMSO):

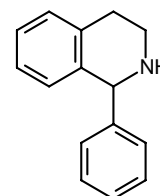
δ (ppm)	Zuordnung	δ (ppm)	Zuordnung
22.73	N-CH ₂ -CH ₂ -CH ₂ -CH ₂ -CH ₂ -N	126.79	arom.
23.13	N-CH ₂ -CH ₂ -CH ₂ -CH ₂ -CH ₂ -N	127.05	arom.
27.73	4x Ph-CH ₂	130.33	arom.
34.85	2x Ph-CH ₂ -Ph	130.58	arom.
53.03	4x Ph-CH ₂ -CH ₂	137.02	arom.
55.65	N-CH ₂ -CH ₂ -CH ₂ -CH ₂ -CH ₂ -N	139.17	arom.

1-Phenyl-1,2,3,4-tetrahydroisochinolin (48)

10 g (48 mmol) 1-Phenyl-3,4-dihydroisochinolin (**23**) werden in 100 ml Methanol gelöst und unter Eiskühlung langsam mit 7,26 g (192 mmol) Natriumborhydrid versetzt. Anschließend erhitzt man ½ h unter Rückfluss, dampft ab und nimmt den Rückstand in 100 ml Wasser auf. Extraktion mit 3x50 ml Chloroform, Trocknen der org. Phase über MgSO₄ und Entfernen des Lösungsmittels im Vakuum führt zu einem weißen Feststoff.

Ausbeute: 8 g, 80 %, weißer Feststoff

Schmelzpunkt: 99°C, Lit.: 97°-99°C [Schmitz, 1958]

R_f-Wert: 0,50 (EtOH)IR (KBr, cm⁻¹): 3258, 2790, 1493, 1452, 1123, 955, 737, 699MG: C₁₅H₁₅N (209,29 g/mol)

Hochauflösende Masse:

gemessen: 210,1286

berechnet für C₁₅H₁₆N: 210,1283GC/MS: t_R = 15.00 min.

m/z (% rel. Int.) = 208 [M-H]⁺ (35.1), 193(1.2), 179(18.0), 165(7.9), 149(18.5), 132(100.0), 117(6.1), 104(7.9), 91(4.8), 77(8.1), 65(1.4), 51(4.4)

¹H-NMR (250 MHz, CDCl₃):

δ (ppm)	Multiplizität	Integration	Zuordnung
2.17	s	1H	NH
2.77-2.95	mc	1H	Ph-CH ₂
2.99-3.18	mc	2H	Ph-CH ₂ -CH ₂
3.21-3.36	mc	1H	Ph-CH ₂ -CH ₂
5.12	s	1H	Ph-CH-Ph
6.72-6.80	d	1H	arom.

δ (ppm)	Multiplizität	Integration	Zuordnung
7.00-7.11	mc	1H	arom.
7.13-7.21	mc	2H	arom.
7.24-7.39	mc	5H	arom.

1-(1-Phenyl-3,4-dihydroisochinolin-2(1*H*)-yl)butan-2-ol (49)

0,1 g (0,48 mmol) 1-Phenyl-1,2,3,4-tetrahydroisochinolin (**48**) werden in 20 ml absolutem Ethanol gelöst und unter Eiskühlung mit 3x10 μ l (0,4 mmol) 1,2-Epoxybutan versetzt. Es wird 5 Tage bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend dampft man ab und kristallisiert aus Ethanol um. Der weiße Feststoff wird abfiltriert und getrocknet. Es entsteht ein Gemisch aus zwei Produkten, welches nicht weiter aufgereinigt werden konnte und so kein auswertbares ^1H -NMR lieferte.

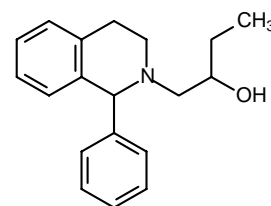
Ausbeute: 27 mg, 20 %, weißer Kristalle

Schmelzpunkt: 47°C

R_f -Wert: 0,75 (EtOH)

IR (KBr, cm^{-1}): 3421, 2932, 2804, 1496, 1451, 1096, 738, 700

MG: $\text{C}_{19}\text{H}_{23}\text{NO}$ (281,39 g/mol)



Elementaranalyse:

gemessen:

C(%)= 81,03; H(%)= 8,32; N(%)= 4,88

berechnet für $\text{C}_{19}\text{H}_{23}\text{NO}$:

C(%)= 81,31; H(%)= 8,53; N(%)= 4,74

GC/MS: t_R = 18.65 + 18.71 min.

m/z (% rel. Int.) = 281 $[\text{M}]^{+*}$ (0.7), 252(2.9), 222(100.0), 204(4.0), 193(2.5), 178(11.1), 165(4.8), 152(1.6), 130(5.5), 115(6.4), 103(1.5), 91(36.0), 77(1.7), 59(0.8)

5-Ethyl-5,6,8,9-tetrahydro-13*bH*-dibenzo[*a,h*]chinolizin (50)

2 g (7,1 mmol) 1-(1-Phenyl-3,4-dihydroisochinolin-2(1*H*)-yl)butan-2-ol (**49**) werden mit 38 g Polyphosphorsäure versetzt und bei 160°C 6 h erhitzt. Die noch 80°C heiße Lösung wird auf Eis gegeben und gerührt. Anschließend wird mit 50 ml Ether extrahiert, die org. Phase verworfen und die wässrige Phase mit Natriumhydroxid alkalisiert. Man extrahiert nochmals mit 3x50 ml Ether, trocknet über MgSO_4 , filtriert und dampft ab. Das verbleibende braune Öl wird säulenchromatographisch über Kieselgel 60 mit Ethanol gereinigt.

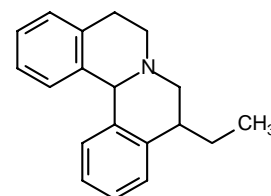
Ausbeute: 0,4 g, 21 %, hellbrauner Feststoff

Schmelzpunkt: 184°C

R_f -Wert: 0,55 (EtOH)

IR (KBr, cm^{-1}): 3434, 2945, 2547, 1632, 1451, 1271, 774

MG: $\text{C}_{19}\text{H}_{21}\text{N}$ (263,38 g/mol)



Elementaranalyse des HCl:

gemessen:

C(%)= 74,38; H(%)= 7,52; N(%)= 4,29

berechnet für $\text{C}_{19}\text{H}_{22}\text{ClN} \times \frac{1}{3} \text{H}_2\text{O}$:

C(%)= 74,62; H(%)= 7,42; N(%)= 4,58

GC/MS: t_R = 18.91 min.

m/z (% rel. Int.) = 262 $[\text{M-H}]^+$ (100.0), 248(5.2), 234(28.6), 217(7.6), 206(21.2), 191(3.5), 178(8.6), 165(2.8), 145(4.6), 130(9.5), 115(12.1), 105(9.6), 91(9.8), 77(8.5)

¹H-NMR (200 MHz, CDCl₃):

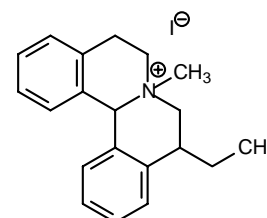
δ (ppm)	Multiplizität	Integration	Zuordnung
0.80-0.95	t	3H	CH ₂ -CH ₃
1.53-1.74	mc	2H	CH ₂ -CH ₃
2.58-3.15	m	7H	2x Ph-CH ₂ , Ph-CH ₂ -CH ₂
3.32-3.46	mc	1H	N-CH-CH ₂ -CH ₃
5.25	s	1H	Ph-CH-Ph
6.58-7.23	m	8H	arom.

5-Ethyl-7-methyl-5,6,8,9-tetrahydro-13bH-dibenzo[a,h]chinoliziniumiodid (51)

0,35 g (1,33 mmol) 5-Ethyl-5,6,8,9-tetrahydro-13bH-dibenzo[a,h]chinolizin (**50**), in 20 ml trockenem Aceton gelöst, werden mit Methyljodid im Überschuss versetzt und unter Stickstoffatmosphäre bei 50°C 24 h gerührt. Der entstandene weiße Feststoff wird abfiltriert, mit wenig Aceton gewaschen und im Vakuum getrocknet.

Ausbeute: 0,35 g, 65 %, weißer Feststoff

Schmelzpunkt: 222°C

IR (KBr, cm⁻¹): 3460, 2958, 2881, 1638, 1495, 1460, 783, 754MG: C₂₀H₂₄IN (405,32 g/mol)

Elementaranalyse:

gemessen:

C(%)= 59,19; H(%)= 6,16; N(%)= 3,33

berechnet für C₂₀H₂₄IN:

C(%)= 59,27; H(%)= 5,97; N(%)= 3,46

¹H-NMR (250 MHz, [D₆]-DMSO):

δ (ppm)	Multiplizität	Integration	Zuordnung
0.88-1.00	t (J = 7.4 Hz)	3H	CH ₂ -CH ₃
1.72-1.94	mc	1H	CH ₂ -CH ₃
1.99-2.12	mc	1H	CH ₂ -CH ₃
3.00-3.31	s, mc	5H	N-CH ₃ , Ph-CH ₂
3.31-3.49	m, überl.	1H	Ph-CH-CH ₂ -CH ₃
3.60-3.85	m	3H	CH ₂ -N-CH ₂
4.06-4.21	mc	1H	N-CH ₂ -CH-Ph
6.01	s	1H	Ph-CH-Ph
6.83-6.91	d	1H	arom.
7.19-7.30	t	1H	arom.
7.33-7.51	m	5H	arom.
7.52-7.59	d	1H	arom.

¹³C-NMR + DEPT + HMQC + HMBC ([D₆]-DMSO):

δ (ppm)	Zuordnung	δ (ppm)	Zuordnung
9.82	CH ₂ -CH ₃	127.44	arom.
22.94	Ph-CH ₂	127.54	arom.
25.04	CH ₂ -CH ₃	128.63	arom.
32.92	N-CH ₂ -CH-Ph	129.11	arom.
50.46	N-CH ₃	129.43	arom., quart.
51.11	Ph-CH ₂ -CH ₂	129.53	arom.
62.90	N-CH ₂ -CH-Ph	129.86	arom., quart.

δ (ppm)	Zuordnung
68.51	Ph-CH-Ph
126.58	arom.
127.10	arom.

δ (ppm)	Zuordnung
130.05	arom.
131.02	arom., quart.
133.30	arom., quart.

5-Ethyl-7-methyl-5,6,7,8,9,14-hexahydrodibenz[*d,g*]azecin-Hydrochlorid (52)

In einen mit 0,15 g (0,37 mmol) 5-Ethyl-7-methyl-5,6,8,9-tetrahydro-13*bH*-dibenzo-[*a,h*]chinoliziniumiodid (**51**) versetzten 100ml-Dreihalskolben, der mit einem Gaseinleitungsrohr, einem Luftballon zur Druckregulation und einem Stopfen verschlossen ist, werden unter Kühlung mit flüssigem Stickstoff ca. 50 ml Ammoniak einkondensiert. Anschließend wird das Kühlbad entfernt und der Ansatz bei ca. -40°C unter Stickstoffatmosphäre zügig mit kleinen Natriumstücken (ca. 4x4x4mm) versetzt, bis eine tiefblaue Farbe bestehen bleibt. Nach Beenden der Zugabe wird die Reaktion nach 26 min. durch Hinzufügen von gesättigter Ammoniumchloridlösung, bis zum Verschwinden der Färbung, abgebrochen. Man dampft den Ammoniak bei Raumtemperatur unter Stickstoffatmosphäre ab und nimmt den Rückstand in 20 ml Wasser auf, extrahiert mit 3x20ml Ether, trocknet die org. Phase über Magnesiumsulfat und dampft ab. Das verbleibende Öl wird in Ether gelöst und mit etherischer HCl-Lösung versetzt. Der weiße Niederschlag wird abfiltriert und aus Ether/Ethanol umkristallisiert.

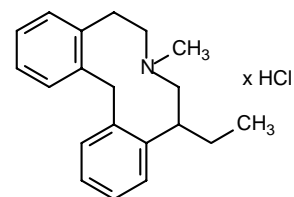
Ausbeute: 37 mg, 32 %, weißer Feststoff

Schmelzpunkt: 233°C

R_f-Wert: 0,30 (EtOH) (Base)

IR (KBr, cm⁻¹): 3472, 2980, 1650, 1458, 771, 754

MG: C₂₀H₂₆ClN (315,89 g/mol)



Elementaranalyse:

gemessen:

C(%)= 73,81; H(%)= 8,34; N(%)= 3,88

berechnet für C₂₀H₂₆ClN x ²/₃ EtOH: C(%)= 73,93; H(%)= 8,72; N(%)= 4,04

GC/MS: t_R= 18.09 min.

m/z (% rel. Int.) = 279 [M]⁺ (28.3), 264(12.9), 236(4.3), 220(6.5), 205(14.6), 193(42.1), 179(65.7), 165(12.6), 146(30.8), 129(10.3), 115(29.9), 105(12.4), 91(24.5), 77(6.1), 58(100.0)

¹H-NMR (Base) (250 MHz, CDCl₃):

δ (ppm)	Multiplizität	Integration	Zuordnung
0.68-0.80	t (<i>J</i> = 7.4 Hz)	3H	CH ₂ -CH ₃
1.42-1.72	mc (<i>J</i> = 7.4 Hz)	2H	CH ₂ -CH ₃
2.02	s	3H	N-CH ₃
2.48-2.74	m	5H	Ph-CH ₂ -CH ₂ -N-CH ₂
2.88-3.04	mc	1H	N-CH ₂ -CH-Ph
3.21-3.38	mc	1H	Ph-CH-CH ₂ -CH ₃
3.76-3.95	d (<i>J</i> = 13.9 Hz)	1H	Ph-CH ₂ -Ph
4.36-4.51	d (<i>J</i> = 13.9 Hz)	1H	Ph-CH ₂ -Ph
6.94-7.14	m	6H	arom.
7.30-7.43	m	2H	arom.

¹³C-NMR (Base) (CDCl₃):

δ (ppm)	Zuordnung
10.63	CH ₂ -CH ₃
25.82	CH ₂ -CH ₃
32.29	Ph-CH ₂
34.43	Ph-CH ₂ -Ph
41.24	N-CH ₂ -CH-Ph
46.01	N-CH ₃
59.30	Ph-CH ₂ -CH ₂
65.68	N-CH ₂ -CH-Ph
123.76	arom.
124.04	arom.

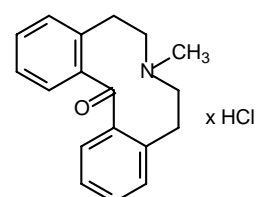
δ (ppm)	Zuordnung
124.21	arom.
124.43	arom.
124.51	arom.
127.73	arom.
128.52	arom.
128.56	arom.
138.02	arom., quart.
138.75	arom., quart.
139.08	arom., quart.
141.18	arom., quart.

7-Methyl-6,7,8,9-tetrahydrodibenz[d,g]azecin-14(5H)-on-Hydrochlorid (124)

0,11 g (0,29 mmol) 7-Methyl-5,6,8,9-tetrahydro-13b*H*-dibenzo[*a,h*]chinoliziniumiodid (**43**) werden in 3 ml DMSO gelöst und bei Raumtemperatur über mehrere Stunden mit kleinen Mengen Natriumhydrid (insgesamt 24 mg) versetzt. Die Gesamtreaktionsdauer beträgt 7 h. Der Ansatz wird in 30 ml Wasser aufgenommen, mit 3x30 ml Ether extrahiert und die org. Phase abgedampft. Der ölige Rückstand wird aus wenig Ether umkristallisiert. Es entstehen weiße Kristalle, die abfiltriert und getrocknet werden. Anschließend löst man wiederum in Ether und versetzt mit etherischer HCl-Lösung. Der weiße Niederschlag wird abfiltriert und im Vakuum getrocknet.

Ausbeute: 60 mg, 68 %, weißer Feststoff

Schmelzpunkt: 227°C

R_f-Wert: 0,14 (EtOH) (Base)IR (KBr, cm⁻¹): 3062, 2933, 2854, 2809, 1638, 1595, 1452MG: C₁₈H₂₀CINO (301,81 g/mol)

Elementaranalyse:

gemessen: C(%)= 71,08; H(%)= 6,87; N(%)= 4,54

berechnet für C₁₈H₂₀CINO x 1/8 H₂O: C(%)= 71,10; H(%)= 6,71; N(%)= 4,61GC/MS: t_R= 18.30 min.

m/z (% rel. Int.) = 265 [M]⁺ (58), 250(7), 236(16), 221(79), 205(11), 193(28), 179(100), 165(32), 146(56), 133(22), 115(14), 103(16), 91(18), 77(20), 71(70), 58(23), 51(7)

¹H-NMR (250 MHz, CDCl₃):

δ (ppm)	Multiplizität	Integration	Zuordnung
2.04	s	3H	N-CH ₃
2.20-3.10	m, überl.	8H	Ph-CH ₂ -CH ₂
7.16-7.44	m	8H	arom.

¹³C-NMR (CDCl₃):

δ (ppm)	Zuordnung
30.91	2x Ph-CH ₂
42.99	N-CH ₃
57.00	2x Ph-CH ₂ -CH ₂

δ (ppm)	Zuordnung
129.48	arom.
129.89	arom.
132.90	arom.

δ (ppm)	Zuordnung
124.78	arom.
126.41	arom.
127.66	arom.
128.49	arom.
128.87	arom.

δ (ppm)	Zuordnung
136.01	arom., quart.
136.19	arom., quart.
138.69	arom., quart.
139.37	arom., quart.
165.57	Ph-C-Ph

7-Benzyl-7-methyl-14-oxo-5,6,7,8,9,14-hexahydrodibenz[*d,g*]azeciniumbromid (136)

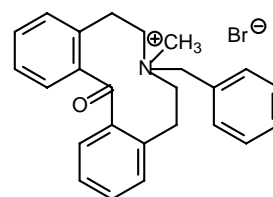
0,44 g (1,66 mmol) 7-Methyl-6,7,8,9-tetrahydrodibenz[*d,g*]azecin-14(5*H*)-on (**124**) werden in 20 ml Toluol gelöst, mit 0,35 g (2 mmol) Benzylbromid versetzt und unter Stickstoffatmosphäre bei 70°C 24 h gerührt. Der entstandene Niederschlag wird abfiltriert, mit Ether gewaschen und im Vakuum getrocknet.

Ausbeute: 0,54 g, 74 %, weißer Feststoff

Schmelzpunkt: 205°C

IR (KBr, cm^{-1}): 3415, 1669, 1400, 930

MG: $\text{C}_{25}\text{H}_{26}\text{BrNO}$ (436,39 g/mol)



Elementaranalyse:

gemessen: $\text{C}(\%) = 64,99$; $\text{H}(\%) = 5,78$; $\text{N}(\%) = 3,14$

berechnet für $\text{C}_{25}\text{H}_{26}\text{BrNO} \times \frac{4}{3} \text{H}_2\text{O}$: $\text{C}(\%) = 65,22$; $\text{H}(\%) = 6,28$; $\text{N}(\%) = 3,04$

$^1\text{H-NMR}$ (250 MHz, MeOD):

δ (ppm)	Multiplizität	Integration	Zuordnung
3.00-3.05	s	3H	N-CH ₃
3.10-3.27	mc	4H	Ph-CH ₂
3.50-3.88	m	4H	Ph-CH ₂ -CH ₂
4.59-4.63	s	2H	N-CH ₂ -Ph
7.39-7.50	m	6H	arom.
7.53-7.64	m	7H	arom.

2-Methyl-1-(2-vinylphenyl)-1,2,3,4-tetrahydroisochinolin-Hydrochlorid (125)

0,11 g (0,29 mmol) 7-Methyl-5,6,8,9-tetrahydro-13*bH*-dibenzo[*a,h*]chinoliziniumiodid (**124**) werden in 2 ml DMSO gelöst und zu einer 50°C warmen Suspension aus 20 mg Natriumhydrid in 2 ml DMSO schnell zugetropft. Es wird 2 h gerührt, anschließend der Ansatz in 30 ml Wasser aufgenommen, mit 3x30 ml Ether extrahiert und die org. Phase abgedampft. Der ölige Rückstand wird säulenchromatographisch über Kieselgel 60 mit Ethanol gereinigt und die entsprechende Fraktion vom Lösungsmittel entfernt. Anschließend löst man in Ether und versetzt mit etherischer HCl-Lösung. Der weiße Niederschlag wird abfiltriert und im Vakuum getrocknet.

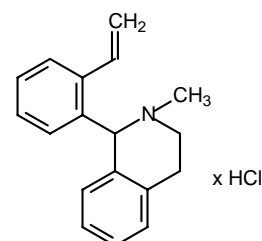
Ausbeute: 20 mg, 24 %, weißer Feststoff

Schmelzpunkt: 208°C

R_f -Wert: 0,73 (EtOH) (Base)

IR (KBr, cm^{-1}): 3434, 2945, 2470, 1612, 1466, 1408, 923, 780

MG: $\text{C}_{18}\text{H}_{20}\text{ClN}$ (285,82 g/mol)



Hochauflösende Masse:

gemessen: 250,1597
berechnet für C₁₈H₂₀N: 250,1595

GC/MS: t_R = 16.10min

m/z (% rel. Int.) = 248 [M-H]⁺ (46.6), 234(55.1), 220(36.1), 205(13.8), 191(7.9), 178(12.2), 165(4.9), 146(100.0), 131(8.7), 115(12.6), 103(6.2), 91(5.4), 77(7.1)

¹H-NMR (250 MHz, CF₃COOD):

δ (ppm)	Multiplizität	Integration	Zuordnung
3.55-3.75	s	3H	N-CH ₃
3.87-4.10	mc	1H	Ph-CH ₂
4.15-4.42	mc	2H	Ph-CH ₂ -CH ₂
4.54-4.73	mc	1H	Ph-CH ₂ -CH ₂
6.18-6.35	d (J = 10.9 Hz)	1H	Ph-CH=CH ₂
6.40-6.58	s, d (J = 12.5 Hz)	2H	Ph-CH-Ph, Ph-CH=CH ₂
7.40-7.52	d (J = 7.9 Hz)	1H	arom., H5
7.52-7.70	dd (J = 11.3 Hz)	1H	Ph-CH=CH ₂
7.75-8.39	m	7H	arom.

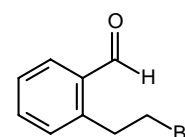
¹³C-NMR + DEPT (CF₃COOD):

δ (ppm)	Zuordnung	δ (ppm)	Zuordnung
25.54	Ph-CH ₂	129.75	arom.
41.99	N-CH ₃	129.81	arom.
53.10	Ph-CH ₂ -CH ₂	130.17	arom.
69.49	Ph-CH-Ph	130.31	arom., quart.
121.67	Ph-CH=CH ₂	130.40	arom., quart.
128.44	arom.	131.76	arom., quart.
128.62	arom.	131.85	arom.
129.14	arom.	133.08	Ph-CH=CH ₂
129.23	arom.	139.85	arom., quart.

2-Bromethylbenzaldehyd (142)

10 g (74,6 mmol) Isochroman (**53**), gelöst in 40 ml CCl₄, werden unter Modifikation einer Vorschrift nach [Schweikert, 1999] unter Rühren und Eiskühlung tropfenweise mit 12 g (75 mmol) Brom versetzt. Anschließend wird unter Rückfluss erhitzt, bis die braune Lösung blassgelb erscheint (ca. 1 h), abgedampft, in 50 ml 47%iger HBr-Lösung aufgenommen und erneut unter Rückfluss 15 min. erwärmt. Nach dem Abkühlen wird mit 7x30 ml Ether extrahiert und die org. Phase mit je 3x30 ml Wasser und 2x30 ml 10%iger NaHCO₃-Lösung gewaschen. Trocknen der org. Phase über MgSO₄, Abfiltrieren und Entfernen des Lösungsmittels liefert ein bräunliches Öl, welches nicht weiter aufgereinigt wurde.

Ausbeute: 9 g, 57 %, braunes Öl
MG: C₉H₉BrO (213,07 g/mol)



¹H-NMR (250 MHz, CDCl₃):

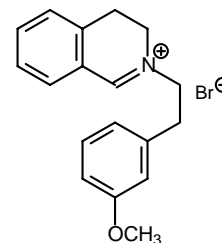
δ (ppm)	Multiplizität	Integration	Zuordnung
3.35-3.40	mc	2H	Ph-CH ₂ -CH ₂ -Br
3.53-3.65	mc	2H	Ph-CH ₂ -CH ₂ -Br
7.15-7.21	d	1H	arom., H3
7.30-7.38	t	1H	arom., H5
7.62-7.81	m	2H	arom., H4, H6
10.1	s	1H	O=C-H

2-[2-(3-Methoxyphenyl)ethyl]-3,4-isochinoliniumbromid (143)

3 g (14,1 mmol) 2-Bromomethylbenzaldehyd (**142**), gelöst in 30 ml Dioxan, werden unter Rühren bei Raumtemperatur tropfenweise mit einer Lösung aus 3 g (19,8 mmol) 3-Methoxyphenylethylamin in 30 ml Dioxan versetzt. Nach ca. 5 min. fällt ein weißer Feststoff aus, der abfiltriert, mit wenig Aceton gewaschen und im Vakuum getrocknet wird.

Ausbeute: 2 g, 41 %, weißer Feststoff

Schmelzpunkt: 185°C

IR (KBr, cm⁻¹): 3470, 2958, 2855, 1670, 1600, 1264MG: C₁₈H₂₀BrNO (346,26 g/mol)

Elementaranalyse:

gemessen: C(%) = 62,20; H(%) = 5,79; N(%) = 4,09
 berechnet für C₁₈H₂₀BrNO: C(%) = 62,40; H(%) = 5,80; N(%) = 4,00

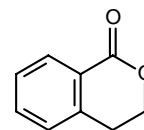
¹H-NMR (250 MHz, [D₆]-DMSO):

δ (ppm)	Multiplizität	Integration	Zuordnung
3.10-3.25	mc	4H	Ph-CH ₂
3.82	s	3H	O-CH ₃
4.05-4.17	t	2H	Ph-CH ₂ -CH ₂ (1')
4.20-4.31	t	2H	Ph-CH ₂ -CH ₂ (3)
6.78-6.88	dd	1H	arom., H4'
6.89-6.94	d	1H	arom., H6'
6.94-7.00	s	1H	arom., H2'
7.18-7.30	t	1H	arom., H5'
7.47-7.60	mc	2H	arom., H1, H4
7.72-7.87	mc	2H	arom., H2, H3
9.21	s	1H	CH=N

Isochroman-1-on (54)

Eine Synthese nach [Markgraf, 1999] wird wie folgt modifiziert: Zu einer Lösung von 15 g (114 mmol) Isochroman (**53**) und 7,6 g (34 mmol) TEBA (Triethylbenzylammoniumchlorid) in 200 ml Dichlormethan gibt man 53 g (333 mmol) durch Vermörsern fein gepulvertes KMnO₄ hinzu. Das Reaktionsgemisch wird 24h im Ultraschallbad refluxiert. Nach dem Abkühlen wird abfiltriert, der Rückstand mit 3x50 ml Dichlormethan gewaschen und die Lösung bis zur vollständigen Entfärbung mit 20%iger Natriumsulfit-Lösung versetzt. Die Lösung wird nochmals filtriert und der Rückstand wie oben gewaschen. Nach Abtrennen der org. Phase wird die wässrige Phase mit H₂SO₄ angesäuert und mit 3x50 ml Dichlormethan extrahiert. Die vereinigten organischen Extrakte werden über Magnesiumsulfat getrocknet und abgedampft. Das verbleibende gelbe Öl wird durch Destillation gereinigt.

Ausbeute: 11,8 g, 70 %, farbloses Öl
 Siedepunkt: 96°C/1,2⁻² mbar, Lit.: 96°C/1,9⁻² mbar [Klinkhammer, 2001]
 Brechungsindex: $n_D^{20}=1,5626$
 R_f -Wert: 0,80 (CHCl₃/15% MeOH)
 MG: C₉H₈O₂ (148,16 g/mol)



GC/MS: t_R = 10.55 min.

m/z (% rel. Int.) = 148 [M]⁺ (69.4), 118(100.0), 103(1.5), 90(64.7), 77(3.7), 63(12.5), 51(8.8)

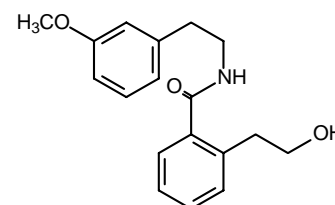
¹H-NMR (250 MHz, CDCl₃):

δ (ppm)	Multiplizität	Integration	Zuordnung
2.9-3.1	t (J = 7.5 Hz)	2H	Ph-CH ₂ -CH ₂ -O
4.4-4.5	t (J = 7.5 Hz)	2H	Ph-CH ₂ -CH ₂ -O
7.15-7.22	d (J = 7.5 Hz)	1H	arom., H5
7.28-7.38	t (J = 7.7 Hz)	1H	arom., H7
7.42-7.51	t (J = 7.5 Hz)	1H	arom., H6
7.97-8.06	d (J = 7.7 Hz)	1H	arom., H8

2-(2-Hydroxyethyl)-N-[2-(3-methoxyphenyl)ethyl]benzamid (56)

10 g (66,1 mmol) 3-Methoxy-phenylethylamin werden mit 10,4 g (70 mmol) Isochromanon (**54**) versetzt und 7 Tage bei 70°C gerührt. Nach dem Abkühlen wird mit wenig Ether übergossen, das Produkt kristallisiert langsam aus. Nach Filtration und Waschen mit Ether wird der weiße Feststoff im Vakuum getrocknet.

Ausbeute: 11,9 g, 60 %, weißer Feststoff
 Schmelzpunkt: 81,5°C, Lit.: 78-79°C [Meise, 1976]
 R_f -Wert: 0,75 (MeOH)
 IR (KBr, cm⁻¹): 3150, 1620, 1510, 1230, 1075
 MG: C₁₈H₂₁NO₃ (299,37 g/mol)



Elementaranalyse:

gemessen: C(%) = 72,15; H(%) = 7,03; N(%) = 4,72
 berechnet für C₁₈H₂₁NO₃: C(%) = 72,20; H(%) = 7,10; N(%) = 4,70

¹H-NMR (250 MHz, [D₆]-DMSO):

δ (ppm)	Multiplizität	Integration	Zuordnung
2.72-2.86	mc (J = 6.8, 7.0 Hz)	4H	2x Ph-CH ₂
3.41-3.51	mc (J = 6.8 Hz)	2H	NH-CH ₂
3.52-3.62	t (J = 7.0 Hz)	2H	HO-CH ₂
3.73	s	3H	O-CH ₃
4.81	s	1H	OH
6.73-6.80	mc	1H	arom.
6.80-6.85	mc	2H	arom.
7.16-7.37	mc	5H	arom.
8.39-8.47	t	1H	NH

3-Methoxy-5,6,8,9-tetrahydro-13bH-dibenzo[a,h]chinolizin (57)

14,2 g (47,5 mmol) 2-(2-Hydroxyethyl)-N-[2-(3-methoxyphenyl)ethyl]benzamid (**56**) werden in 100 ml POCl₃ gelöst und 48 h bei 120°C unter Rückfluss erhitzt. Nach dem Abkühlen wird mit 60 ml Petrolether (60/40) übergossen und stark geschüttelt. Überstehender Petrolether wird vom sich absetzenden schwarzen Öl dekantiert und das Öl mit weiteren 6x20 ml Petrolether digeriert. Der schwarze Rückstand wird in 50 ml trockenem Methanol aufgenommen und unter Eiskühlung portionsweise mit 22 g (581 mmol) NaBH₄ versetzt, eine halbe Stunde unter Rückfluss erhitzt und anschließend das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Lösen des Feststoffes in 100 ml Wasser, Extrahieren mit 5x40 ml Ethylacetat und Abdampfen im Vakuum führt zu einem weißgelben Pulver.

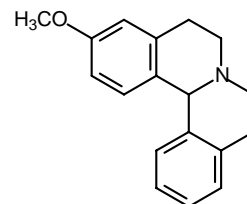
Ausbeute: 5,5 g, 44 %, weißgelbes Pulver

Schmelzpunkt: 88°C, Lit.: 74-75°C [Meise, 1976]

R_f-Wert: 0,65 (MeOH)

IR (KBr, cm⁻¹): 3434, 2932, 2856, 1660-1620, 1496, 1238

MG: C₁₈H₁₉NO (265,35 g/mol)



GC/MS: t_R = 20.48 min.

m/z (% rel. Int.) = 264 [M-H]⁺ (100.0), 250(4.2), 236(10.2), 220(5.5), 206(3.6), 178(3.6), 165(3.3), 134(3.6), 115(3.9), 105(4.7), 91(2.7), 77(3.2), 51(1.3)

¹H-NMR (250 MHz, CDCl₃):

δ (ppm)	Multiplizität	Integration	Zuordnung
2.82-2.95	m	4H	Ph-CH ₂
3.07-3.22	m	4H	Ph-CH ₂ -CH ₂
3.76	s	3H	O-CH ₃
5.03	s	1H	Ph-CH-Ph
6.64-6.67	d	1H	arom., H4
6.67-6.72	dd	1H	arom., H2
7.07-7.19	mc	5H	arom., H1, H10-13

3-Methoxy-5,6,8,9-tetrahydrodibenzo[a,h]chinoliziniumiodid (63)

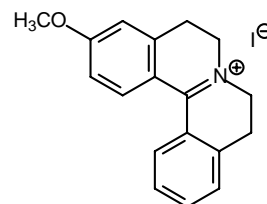
0,35 g (1,17 mmol) 2-(2-Hydroxyethyl)-N-[2-(3-methoxyphenyl)ethyl]benzamid (**56**) werden in 5 ml POCl₃ gelöst und bei 120°C 70 h erhitzt. Nach dem Abkühlen wird mit 30 ml Petrolether (60/40) übergossen und stark geschüttelt. Überstehender Petrolether wird vom sich absetzenden schwarzen Öl dekantiert und das Öl mit weiteren 3x20 ml Petrolether digeriert. Der Rückstand wird in einem Gemisch aus 10 ml Methanol und 40 ml 2N-Salzsäure aufgenommen und mit 3x15 ml Ethylacetat extrahiert. Versetzen der wässrigen Phase mit 30%iger NaI-Lösung führt zur Kristallbildung. Der Niederschlag wird abfiltriert, mit wenig Wasser gewaschen, in 150 ml Methanol aufgenommen, 0,2 g Aktivkohle zugegeben und 1 h unter Rückfluss erhitzt. Anschließend wird heiß filtriert, abgedampft und aus Ethanol umkristallisiert.

Ausbeute: 0,25 g, 54 %, gelbe Kristalle

Schmelzpunkt: 248°C

IR (KBr, cm⁻¹): 3422, 2832, 1590, 1377, 1267

MG: C₁₈H₁₈I⁺NO (391,25 g/mol)



Elementaranalyse:

gemessen: C(%)= 54,99; H(%)= 4,78; N(%)= 3,73
 berechnet für C₁₈H₁₈INO: C(%)= 55,30; H(%)= 4,60; N(%)= 3,60

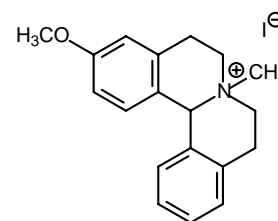
¹H-NMR (200 MHz, [D₆]-DMSO):

δ (ppm)	Multiplizität	Integration	Zuordnung
3.15-3.26	mc	4H	Ph-CH ₂
3.88-3.98	s	3H	O-CH ₃
3.99-4.20	mc	4H	Ph-CH ₂ -CH ₂
7.05-7.18	dd (<i>J</i> = 2.4, 8.8 Hz)	1H	arom., H2
7.18-7.30	d (<i>J</i> = 2.4 Hz)	1H	arom., H4
7.50-7.75	mc	4H	arom.
7.75-7.90	mc	1H	arom.

3-Methoxy-7-methyl-5,6,8,9-tetrahydro-13b*H*-dibenzo[*a,h*]chinoliziniumiodid (**58**)

A) 0,13 g (0,47 mmol) 3-Methoxy-5,6,8,9-tetrahydro-13b*H*-dibenzo[*a,h*]chinolizin (**57**) werden in 20 ml trockenem Aceton gelöst, mit 0,34 g (2,4 mmol) Methyljodid versetzt und unter Argon bei 65°C 24 h lang gerührt. Der entstandene Niederschlag wird abfiltriert, mit wenig Aceton gewaschen und im Vakuum getrocknet.

Ausbeute: 0,12 g, 61 %, weißer Feststoff
 Schmelzpunkt: 231°C, Lit.: 231°C [Schweikert, 1999]
 IR (KBr, cm⁻¹): 3436, 2955, 2873, 1616, 1507, 1462, 766
 MG: C₁₉H₂₂INO (407,29 g/mol)



Elementaranalyse:

gemessen: C(%)= 55,87; H(%)= 5,48; N(%)= 3,49
 berechnet für C₁₉H₂₂INO: C(%)= 56,00; H(%)= 5,40; N(%)= 3,40

¹H-NMR (250 MHz, [D₆]-DMSO):

δ (ppm)	Multiplizität	Integration	Zuordnung
3.14	s	3H	N-CH ₃
3.16-3.24	mc	4H	2x Ph-CH ₂
3.75	s	3H	O-CH ₃
3.71-3.81	mc	4H	2x Ph-CH ₂ -CH ₂
5.81-5.82	s	1H	Ph-CH-Ph
6.88-6.91	dd (<i>J</i> = 2.5, 8.5 Hz)	1H	arom., H2
6.91-6.93	d (<i>J</i> = 2.5 Hz)	1H	arom., H4
7.02-7.05	d (<i>J</i> = 8.5 Hz)	1H	arom., H1
7.11-7.14	d (<i>J</i> = 7.9 Hz)	1H	arom., H10
7.29-7.41	mc	3H	arom., H11-13

B) 0,39 g (1,13 mmol) 2-[2-(3-Methoxyphenyl)ethyl]-3,4-isochinoliniumbromid (**143**) werden in 20 ml einer 6N-Salzsäurelösung gelöst und bei 100°C 6 h erhitzt. Anschließend erfolgt Alkalisierung mit 20%iger NaOH-Lösung, Extraktion der Lösung mit 3x40 ml Ether und Trocknen der org. Phase über MgSO₄. Nach Filtration und Abdampfen wird der Rückstand in 30 ml trockenem Aceton gelöst, mit 1 g (7 mmol) Methyljodid versetzt und unter Argon 24 h bei 40°C gerührt. Der entstandene Niederschlag wird abfiltriert und mit Aceton gewaschen.

Ausbeute: 0,1 g, 22 %, weißer Feststoff

Die analytischen Daten stimmen mit den unter A) angegebenen überein.

3-Methoxy-5,8,9,14-tetrahydrodibenz[*d,g*]azecin-7(6*H*)-ethylcarboxylat (60)

2 g (7,5 mmol) 3-Methoxy-5,6,8,9-tetrahydro-13*bH*-dibenzo[*a,h*]chinolizin (**57**) werden in 150 ml trockenem THF gelöst und in einem Methanol/Trockeneisbad unter Stickstoffatmosphäre gekühlt. Bei -76°C wird durch ein Septum tropfenweise 4,8 g (44,2 mmol) Chlorameisensäureethylester zugegeben, woraufhin eine Trübung entsteht. Es wird 4 h gerührt und die nun klare Lösung mit 1,6 g (25 mmol) Natriumcyanborhydrid, gelöst in 15 ml trockenem THF, versetzt. Man rührt über Nacht und erwärmt langsam auf Raumtemperatur. Die entstandene Suspension wird mit 250 ml 2N-NaOH-Lösung alkalisiert und mit NaCl gesättigt. Die sich langsam absetzende THF-Phase wird abgetrennt und das Lösungsmittel entfernt. Die wässrige Phase extrahiert man mit 100 ml CH₂Cl₂, vereinigt die org. Phase mit dem THF-Rückstand und wäscht mit 50 ml Wasser. Nach Abtrennen der CH₂Cl₂-Phase wird über MgSO₄ getrocknet, abfiltriert und abgedampft. Der ölige Rückstand kristallisiert langsam aus und kann ohne zusätzliche Reinigung weiter umgesetzt werden.

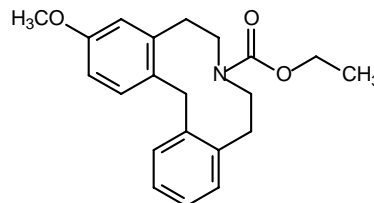
Ausbeute: 2,7 g, 100 %, weißes Pulver

Schmelzpunkt: 99°C

R_F-Wert: 0,71 (EtOH)

IR (KBr, cm⁻¹): 3447, 2940, 1685, 1500, 1258

MG: C₂₁H₂₅NO₃ (339,43 g/mol)



Hochauflösende Masse:

gemessen: 362,1738

berechnet für C₂₁H₂₅NNaO₃: 362,1732

GC/MS: t_R = 23.23 min.

m/z (% rel. Int.) = 339 [M]⁺ (24.0), 310(14.6), 294(1.8), 266(2.4), 234(37.3), 223(8.2), 206(21.4), 191(4.2), 178(9.8), 165(10.8), 134(7.0), 116(10.8), 104(100.0), 91(5.1), 77(2.7)

¹H-NMR (250 MHz, CDCl₃):

δ (ppm)	Multiplizität	Integration	Zuordnung
0.69-0.82	dt (<i>J</i> = 7.1 Hz)	3H	O-CH ₂ -CH ₃
2.20-2.36	t	2H	Ph-CH ₂
2.79-2.99	mc	2H	Ph-CH ₂
3.27-3.41	mc	2H	Ph-CH ₂ -CH ₂
3.41-3.55	mc	2H	Ph-CH ₂ -CH ₂
3.64-3.78	s, mc	5H	O-CH ₃ , O-CH ₂ -CH ₃
3.94	s	2H	Ph-CH ₂ -Ph
6.51-6.68	d,mc (<i>J</i> = 2.8 Hz)	2H	arom., H2, H4
6.93-7.20	mc	5H	arom.

3-Methoxy-7-methyl-5,6,7,8,9,14-hexahydrodibenz[*d,g*]azecin-Hydrochlorid (61)

A) In einen mit 0,5 g (1,23 mmol) 3-Methoxy-7-methyl-5,6,8,9-tetrahydro-13*bH*-dibenzo[*a,h*]chinoliziniumiodid (**58**) versetzten 100ml-Dreihalskolben, der mit einem Gaseinleitungsrohr, einem Luftballon zur Druckregulation und einem Stopfen verschlossen ist, werden unter Kühlung mit flüssigem Stickstoff ca. 50 ml Ammoniak einkondensiert.

Anschließend wird das Kühlbad entfernt und der Ansatz bei ca. -40°C unter Stickstoffatmosphäre zügig mit kleinen Natriumstücken (ca. $4 \times 4 \times 4 \text{ mm}$) versetzt, bis eine tiefblaue Farbe bestehen bleibt. Nach Beenden der Zugabe wird die Reaktion nach 8 min. durch Hinzufügen gesättigter Ammoniumchloridlösung, bis zum Verschwinden der Färbung, abgebrochen. Man dampft den Ammoniak bei Raumtemperatur unter Stickstoffatmosphäre ab und nimmt den Rückstand in 50 ml Wasser auf, extrahiert mit $3 \times 40 \text{ ml}$ Ether, trocknet die org. Phase über Magnesiumsulfat und dampft ab. Der ölige Rückstand wird über Kieselgel 60 mit $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ (85/15) säulenchromatographisch gereinigt, anschließend mit etherischer Salzsäurelösung versetzt und der Niederschlag abfiltriert. Umkristallisation aus EtOH/Ether und Trocknen im Vakuum führt zu weißen Kristallen.

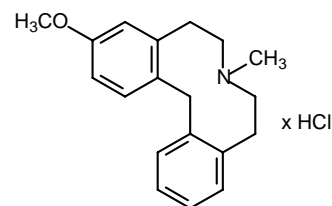
Ausbeute: 0,07 g, 20 %, weiße Kristalle

Schmelzpunkt: 208°C (HCl)

R_f -Wert: 0,23 (EtOH) (Base)

IR (KBr, cm^{-1}): 3436, 2942, 1610, 1500, 1459, 1253, 1041

MG: $\text{C}_{19}\text{H}_{24}\text{ClNO}$ (317,86 g/mol)



Elementaranalyse:

gemessen:

C(%) = 66,06; H(%) = 7,76; N(%) = 3,60

berechnet für $\text{C}_{19}\text{H}_{24}\text{ClNO} \times \frac{3}{2} \text{H}_2\text{O}$:

C(%) = 66,17; H(%) = 7,89; N(%) = 4,06

GC/MS: t_R = 19.81 min.

m/z (% rel. Int.) = 281 [M] $^{+}$ (62.2), 266(16.7), 252(2.4), 238(9.1), 223(71.2), 209(60.7), 190(12.5), 176(100.0), 165(31.6), 146(56.4), 134(9.0), 115(23.1), 104(10.9), 91(13.8), 71(23.7), 58(38.0)

$^1\text{H-NMR}$ (Base) (500 MHz, $[\text{D}_6]$ -DMSO):

δ (ppm)	Multiplizität	Integration	Zuordnung
2.10	s	3H	N-CH ₃
2.62-2.74	mc	8H	2x Ph-CH ₂ -CH ₂
3.69	s	3H	O-CH ₃
4.19	s	2H	Ph-CH ₂ -Ph
6.64-6.66	d ($J = 2.8 \text{ Hz}$)	1H	arom., H4
6.66-6.70	dd ($J = 2.8, 8.5 \text{ Hz}$)	1H	arom., H2
7.04-7.11	mc	3H	arom., H10-12
7.20-7.24	d ($J = 8.2 \text{ Hz}$)	1H	arom., H1
7.27-7.32	mc	1H	arom., H13

$^{13}\text{C-NMR}$ + DEPT (CDCl_3):

δ (ppm)	Zuordnung
32.31	Ph-CH ₂
36.68	Ph-CH ₂ -Ph
45.75	N-CH ₃
55.19	O-CH ₃
58.64	Ph-CH ₂ -CH ₂
111.88	arom., C2
114.61	arom., C4
126.55	arom.

δ (ppm)	Zuordnung
126.67	arom.
130.50	arom.
130.57	arom.
131.53	arom.
132.38	arom., quart.
139.23	arom., quart.
140.54	arom., 2x quart.
158.11	arom., C3

B) 0,2 g (0,59 mmol) 3-Methoxy-5,8,9,14-tetrahydrodibenz[*d,g*]azecin-7(6*H*)-ethylcarboxylat (**60**) werden in 5 ml trockenem THF gelöst und unter Eiskühlung tropfenweise zu einer Suspension aus 0,09 g LiAlH₄ in 15 ml trockenem THF gegeben. Anschließend rührt man unter Stickstoffatmosphäre 4 h, alkalisiert mit 5%iger NaOH-Lösung, filtriert den Niederschlag ab und trennt die Phasen. Die THF-Phase wird abgedampft, die wässrige Phase mit 2x30 ml CHCl₃ extrahiert und die org. Phase mit dem Eindampfrückstand der THF-Phase vereinigt. Man trocknet über MgSO₄, filtriert ab und entfernt das Lösungsmittel im Vakuum. Der Rückstand wird in Ether gelöst, mit etherischer HCl-Lösung versetzt, der entstandene Niederschlag abfiltriert und im Vakuum getrocknet.

Ausbeute: 0,1 g, 55 %, weiße Kristalle

Die analytischen Daten stimmen mit den unter A) angegebenen überein.

3-Methoxy-7-methyl-6,7,8,9-tetrahydrodibenz[*d,g*]azecin-14(5*H*)-on-Hydrochlorid (**129**)

0,1 g (0,25 mmol) 3-Methoxy-7-methyl-5,6,8,9-tetrahydro-13*bH*-dibenzo[*a,h*]chinolizinium-iodid (**58**) werden in 3 ml DMSO gelöst und bei Raumtemperatur über mehrere Stunden mit kleinen Mengen Natriumhydrid (insgesamt 24 mg) versetzt. Die Gesamtreaktionsdauer beträgt 7 h. Der Ansatz wird in 30 ml Wasser aufgenommen, mit 3x30 ml Ether extrahiert und die org. Phase abgedampft. Der ölige Rückstand wird aus wenig Ether umkristallisiert. Es entstehen weiße Kristalle, die abfiltriert und getrocknet werden. Anschließend löst man wiederum in Ether und versetzt mit etherischer HCl-Lösung. Der weiße Niederschlag wird abfiltriert und aus Ether/MeOH umkristallisiert.

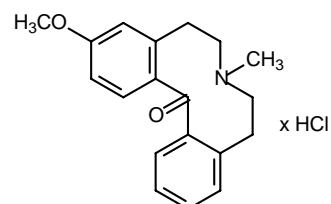
Ausbeute: 50 mg, 60 %, weißer Feststoff

Schmelzpunkt: 235°C, Base: 116°C

Rf-Wert: 0,13 (EtOH) (Base)

IR (KBr, cm⁻¹): 3447, 2945, 2842, 1638, 1600, 1490, 1445, 1245

MG: C₁₉H₂₂ClNO₂ (331,84 g/mol)



Hochauflösende Masse:

gemessen: 296,1646

berechnet für C₁₉H₂₂NO₂: 296,1650

GC/MS: t_R = 20.79 min.

m/z (% rel. Int.) = 295 [M]⁺ (47.2), 280(7.1), 266(7.5), 251(66.5), 237(8.5), 223(17.1), 209(42.5), 193(15.7), 176(40.6), 165(29.6), 146(29.5), 133(11.9), 115(10.7), 103(10.6), 91(17.0), 71(100.0), 58(30.0)

¹H-NMR + HMBC (250 MHz, CF₃COOD):

δ (ppm)	Multiplizität	Integration	Zuordnung
2.97	s	3H	N-CH ₃
3.01-3.31	mc	4H	Ph-CH ₂
3.61-3.82	mc, s	5H	Ph-CH ₂ -CH ₂ , O-CH ₃
3.82-4.08	m	2H	Ph-CH ₂ -CH ₂
6.62-6.69	d (J = 2.5 Hz)	1H	arom., H4
6.71-6.82	dd (J = 2.5, 8.8 Hz)	1H	arom., H2
7.11-7.19	dd	1H	arom., H10
7.19-7.38	mc	3H	arom., H11-13
7.38-7.50	d	1H	arom., H1

a) ^{13}C -NMR + DEPT ($\text{CF}_3\text{COOD}/\text{CDCl}_3$):

δ (ppm)	Zuordnung
23.52	Ph-CH ₂
23.73	Ph-CH ₂
45.19	N-CH ₃
53.69	Ph-CH ₂ -CH ₂
53.89	Ph-CH ₂ -CH ₂
55.41	O-CH ₃
94.66	Ph-C-Ph
113.51	arom., C2
114.11	arom., C4
124.46	arom., quart.
127.80	arom.
128.86	arom., quart.
128.88	arom.
129.09	arom.
130.41	arom.
130.56	arom., quart.
130.57	arom.
132.40	arom., quart.
160.68	arom., C3

b) ^{13}C -NMR (CDCl_3):

δ (ppm)	Zuordnung
32.02	Ph-CH ₂
33.20	Ph-CH ₂
41.95	N-CH ₃
55.24	O-CH ₃
59.49	Ph-CH ₂ -CH ₂
59.86	Ph-CH ₂ -CH ₂
110.58	arom., C2
115.51	arom., C4
125.87	arom.
127.62	arom.
129.94	arom.
129.94	arom.
130.28	arom.
134.93	arom.
140.25	arom.
142.29	arom.
142.62	arom.
160.97	arom., C3
191.61	Ph-C-Ph

7-Ethyl-3-methoxy-5,6,8,9-tetrahydro-13bH-dibenzo[a,h]chinoliziniumiodid (64)

0,7 g (2,7 mmol) 3-Methoxy-5,6,8,9-tetrahydro-13bH-dibenzo[a,h]chinolizin (**57**) werden in 20 ml trockenem Aceton gelöst, mit 0,62 g (4 mmol) Ethyliodid versetzt und unter Argon bei 50°C 20 h lang gerührt. Der entstandene Niederschlag wird abfiltriert, mit wenig Aceton gewaschen und im Vakuum getrocknet.

Ausbeute: 0,97 g, 86 %, hellgelber Feststoff

Schmelzpunkt: 219°C

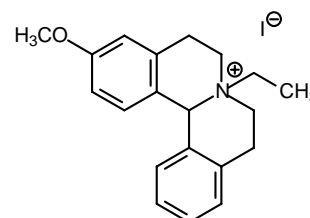
IR (KBr, cm^{-1}): 3434, 2971, 2881, 1618, 1504, 1440, 1285, 762

MG: $\text{C}_{20}\text{H}_{24}\text{INO}$ (421,32 g/mol)

Hochauflösende Masse:

gemessen: 294,1854

berechnet für $\text{C}_{20}\text{H}_{24}\text{NO}$: 294,1858



^1H -NMR (250 MHz, $[\text{D}_6]$ -DMSO):

δ (ppm)	Multiplizität	Integration	Zuordnung
1.28-1.43	t	3H	N-CH ₂ -CH ₃
3.05-3.26	mc	4H	Ph-CH ₂
3.38-3.51	q	2H	N-CH ₂ -CH ₃
3.59-3.78	mc	4H	Ph-CH ₂ -CH ₂
3.75	s	3H	O-CH ₃
5.88	s	1H	Ph-CH-Ph
6.85-7.18	mc	4H	arom.
7.27-7.48	mc	3H	arom.

7-Ethyl-3-methoxy-5,6,7,8,9,14-hexahydrodibenz[*d,g*]azecin-Hydrochlorid (66)

In einen mit 0,22 g (1,23 mmol) 7-Ethyl-3-methoxy-5,6,8,9-tetrahydro-13b*H*-dibenzo[*a,h*]chinoliziniumiodid (**64**) versetzten 100ml-Dreihalskolben, der mit einem Gaseinleitungsrohr, einem Luftballon zur Druckregulation und einem Stopfen verschlossen ist, werden unter Kühlung mit flüssigem Stickstoff ca. 60 ml Ammoniak einkondensiert. Anschließend wird das Kühlbad entfernt und der Ansatz bei ca. -40°C unter Stickstoffatmosphäre zügig mit kleinen Natriumstücken (ca. 4x4x4mm) versetzt, bis eine tiefblaue Farbe bestehen bleibt. Nach Beenden der Zugabe wird die Reaktion nach 8 min. durch Hinzufügen gesättigter Ammoniumchloridlösung, bis zum Verschwinden der Färbung, abgebrochen. Man dampft den Ammoniak bei Raumtemperatur unter Stickstoffatmosphäre ab und nimmt den Rückstand in 50 ml Wasser auf, extrahiert mit 3x30 ml Ether, trocknet die org. Phase über Magnesiumsulfat und dampft ab. Der ölige Rückstand wird in wenig Ether aufgenommen und mit etherischer HCl-Lösung versetzt. Der Niederschlag wird aus EtOH/Ether umkristallisiert.

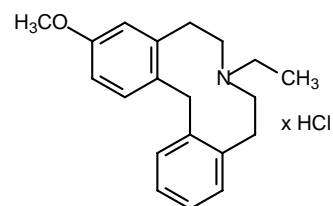
Ausbeute: 0,27 g, 65 %, weiße Kristalle

Schmelzpunkt: 258°C (HCl)

R_f-Wert: 0,23 (Ether) (Base)

IR (KBr, cm⁻¹): 3408, 2958, 2611, 1618, 1503, 1445, 1264, 1045

MG: C₂₀H₂₆ClNO (331,88 g/mol)



Elementaranalyse:

gemessen:

C(%) = 70,06; H(%) = 7,73; N(%) = 4,03

berechnet für C₂₀H₂₆ClNO x 1/3 H₂O: C(%) = 70,06; H(%) = 8,10; N(%) = 4,02

GC/MS: t_R = 23.77 min.

m/z (% rel. Int.) = 295 [M]⁺ (35.2), 280(10.6), 266(16.6), 237(11.2), 223(89.5), 209(72.8), 190(100.0), 178(45.3), 160(61.8), 146(19.2), 135(19.7), 115(56.5), 104(22.4), 91(39.6), 72(78.5), 58(99.8)

¹H-NMR der Base (250 MHz, CDCl₃):

δ (ppm)	Multiplizität	Integration	Zuordnung
0.72-0.84	t (<i>J</i> = 7.1 Hz)	3H	N-CH ₂ -CH ₃
2.30-2.45	q (<i>J</i> = 7.2 Hz)	2H	N-CH ₂ -CH ₃
2.48-2.70	mc	8H	Ph-CH ₂ -CH ₂
3.68	s	3H	O-CH ₃
4.33	s	2H	Ph-CH ₂ -Ph
6.51-6.56	d (<i>J</i> = 2.8 Hz)	1H	arom., H4
6.57-6.65	dd (<i>J</i> = 2.8, 8.4 Hz)	1H	arom., H2
6.93-7.00	mc	1H	arom.
7.00-7.08	mc	2H	arom.
7.08-7.14	d (<i>J</i> = 8.4 Hz)	1H	arom., H1
7.16-7.22	mc	1H	arom.

3-Hydroxy-7-methyl-5,6,8,9-tetrahydro-13b*H*-dibenzo[*a,h*]chinoliziniumbromid (59)

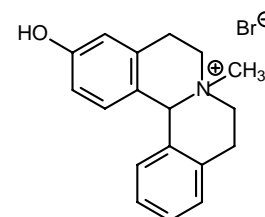
7,9 g (19,4 mmol) 3-Methoxy-7-methyl-5,6,8,9-tetrahydro-13b*H*-dibenzo[*a,h*]chinoliziniumiodid (**58**) werden unter Rühren in 150 ml 47%iger HBr-Lösung gelöst und unter Rückfluss 4½ h erhitzt. Anschließend dampft man ab und nimmt den Rückstand in wenig Aceton auf. Der weiße Feststoff wird abfiltriert und im Vakuum getrocknet.

Ausbeute: 6,3 g, 84 %, weißer Feststoff

Schmelzpunkt: 252°C, Lit.: 260°C [Schweikert, 1999]

IR (KBr, cm^{-1}): 3436, 3161, 2887, 1624, 1512, 1445, 1219, 742

MG: $\text{C}_{18}\text{H}_{20}\text{BrNO}$ (346,62 g/mol)



Hochauflösende Masse:

gemessen: 266,1542

berechnet für $\text{C}_{18}\text{H}_{20}\text{NO}$: 266,1545

^1H -NMR (250 MHz, $[\text{D}_6]$ -DMSO):

δ (ppm)	Multiplizität	Integration	Zuordnung
3.05-3.25	m	4H	Ph- CH_2
3.15-3.17	s	3H	N- CH_3
3.66-3.87	mc	4H	Ph- CH_2 - CH_2
5.84	s	1H	Ph-CH-Ph
6.68-6.75	s, dd ($J = 2.5, 6.8$ Hz)	2H	arom., H2, H4
6.88-6.94	dd ($J = 6.8$ Hz)	1H	arom., H1
7.09-7.15	d ($J = 7.4$ Hz)	1H	arom., H10
7.25-7.42	mc	3H	arom., H11-13
9.65-9.80	brs	1H	OH

3-Hydroxy-7-methyl-5,6,7,8,9,14-hexahydrodibenz[d,g]azecin-Hydrochlorid (62)

A) In einem 100ml-Rundkolben werden 0,24 g (0,69 mmol) 3-Hydroxy-7-methyl-5,6,8,9-tetrahydro-13bH-dibenzo[a,h]chinoliziniumbromid (**59**) in 60 ml Ethanol gelöst und mit 0,1 g PtO_2 versetzt. Der Kolben wird mit einem Gaseinleitungsrohr mit Federsicherung verschlossen, das über zwei Ventile reguliert werden kann. Nach Evakuierung dieses Reaktionsgefäßes mit Stickstoff wird ein mit Wasserstoff gefüllter Gasballon an das Einleitungsrohr angeschlossen, durch Öffnen beider Ventile wenig Wasserstoff durchgeblasen und anschließend der Ausgang durch das zweite Ventil verschlossen. Bei Normaldruck wird 70 h hydriert. Anschließend filtriert man ab, entfernt das Lösungsmittel im Vakuum und nimmt den Rückstand in 50 ml 2 N-HCl-Lösung auf. Die wässrige Phase wird mit 3x30 ml Ether extrahiert und mit 5% NaOH-Lösung auf einen pH-Wert von 8-9 eingestellt. Man extrahiert nochmals mit 4x30 ml CHCl_3 , trocknet die CHCl_3 -Phase über MgSO_4 , filtriert und dampft ab. Der Rückstand wird in Ether gelöst und mit etherischer HCl-Lösung versetzt. Der weiße Niederschlag wird abfiltriert und aus Ether/Ethanol umkristallisiert.

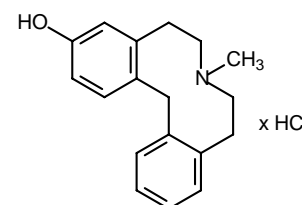
Ausbeute: 34 mg, 16 %, weiße Kristalle

Schmelzpunkt: 254°C, Lit. (Base): 72°C [Schweikert, 1999]

R_f -Wert: 0,24 ($\text{CHCl}_3/10\%\text{MeOH}$) (Base)

IR (KBr, cm^{-1}): 2928, 2748, 1617, 1581, 1473, 1260, 757

MG: $\text{C}_{18}\text{H}_{22}\text{ClNO}$ (303,83 g/mol)



Elementaranalyse:

gemessen: C(%)= 69,71; H(%)= 7,30; N(%)= 4,56

berechnet für $\text{C}_{18}\text{H}_{22}\text{ClNO} \times \frac{1}{3} \text{H}_2\text{O}$: C(%)= 69,78; H(%)= 7,37; N(%)= 4,52

GC/MS: t_R = 20.12 min.

m/z (% rel. Int.) = 267 $[\text{M}]^{+*}$ (45.3), 252(12.8), 221(12.4), 209(85.9), 195(86.9), 178(25.1), 162(100.0), 146(75.1), 133(23.7), 115(51.9), 103(19.1), 91(34.4), 77(31.7), 58(99.7)

¹H-NMR (250 MHz, [D₆]-DMSO):

δ (ppm)	Multiplizität	Integration	Zuordnung
2.79	s	3H	N-CH ₃
2.95-3.60	m, überl.	8H	Ph-CH ₂ -CH ₂
3.90-4.20	d (<i>J</i> = 10.9 Hz)	2H	Ph-CH ₂ -Ph
6.53-6.60	d (<i>J</i> = 2.6 Hz)	1H	arom., H4
6.60-6.78	dd (<i>J</i> = 2.5, 8.3 Hz)	1H	arom., H2
7.12-7.27	mc	4H	arom., H1, H10-12
7.37-7.46	dd	1H	arom., H13
9.35-9.40	s	1H	OH
10.65-10.90	brs	1H	N-H ⁺

B) In einen mit 2,0 g (5,77 mmol) 3-Hydroxy-7-methyl-5,6,8,9-tetrahydro-13b*H*-dibenzo[*a,h*]chinoliziniumiodid (**59**) versetzten 300ml-Dreihalskolben, der mit einem Gaseinleitungsrohr, einem Luftballon zur Druckregulation und einem Stopfen verschlossen ist, werden unter Kühlung mit flüssigem Stickstoff ca. 150 ml Ammoniak einkondensiert. Anschließend wird das Kühlbad entfernt und der Ansatz bei ca. -40°C unter Stickstoffatmosphäre zügig mit kleinen Natriumstücken (ca. 4x4x4mm) versetzt, bis eine tiefblaue Farbe bestehen bleibt. Nach Beenden der Zugabe wird die Reaktion nach 25 min. durch Hinzufügen gesättigter Ammoniumchloridlösung, bis zum Verschwinden der Färbung, abgebrochen. Man dampft den Ammoniak bei Raumtemperatur unter Stickstoffatmosphäre ab und nimmt den Rückstand in 50 ml Wasser auf, extrahiert mit 3x40 ml Ether, trocknet die org. Phase über Magnesiumsulfat und dampft ab. Der Rückstand wird in wenig Ether aufgenommen und mit etherischer HCl-Lösung versetzt. Der Niederschlag wird aus EtOH/Ether umkristallisiert.

Ausbeute: 1,2 g, 68 %, weiße Kristalle

¹H-NMR (250 MHz, MeOD):

δ (ppm)	Multiplizität	Integration	Zuordnung
2.28	s	3H	N-CH ₃
2.65-2.85	m	8H	Ph-CH ₂ -CH ₂
4.23	s	2H	Ph-CH ₂ -Ph
6.51-6.55	d (<i>J</i> = 2.5 Hz)	1H	arom., H4
6.55-6.61	dd (<i>J</i> = 2.6, 8.2 Hz)	1H	arom., H2
7.03-7.16	mc	4H	arom., H1, H10-12
7.25-7.34	dd	1H	arom., H13

Die analytischen Daten stimmen mit den unter A) angegebenen überein.

4-Chloro-3-hydroxy-7-methyl-5,6,7,8,9,14-hexahydrodibenz[*d,g*]azecin-Hydrochlorid (**68**)

A) 0,2 g (0,75 mmol) 3-Hydroxy-7-methyl-5,6,7,8,9,14-hexahydro-dibenz[*d,g*]azecin (**62**) werden in 4 ml Eisessig gelöst, unter Kühlung mit 0,15 g (1,12 mmol) Sulfurylchlorid versetzt und bei Raumtemperatur 2 ½ h gerührt. Anschließend stellt man den pH-Wert mit NaOH-Lösung auf 9 ein und extrahiert mit 5x20 ml CH₂Cl₂. Nach Abdampfen der org. Phase wird der Rückstand in wenig EtOH gelöst und mittels präparativer DC (Kieselgel 60) mit EtOH als Elutionsmittel aufgetrennt. Man trägt die Bande (R_F-Wert s. u.) von der DC ab, extrahiert mit CH₂Cl₂, dampft ab und versetzt den in Ether gelösten Rückstand mit etherischer HCl-Lösung. Der entstandene weiße Niederschlag wird abfiltriert und im Vakuum getrocknet.

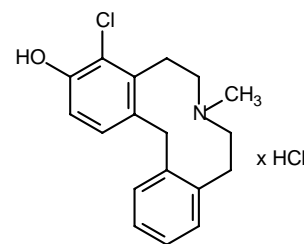
Ausbeute: 29 mg, 12 %, weiße Kristalle

Schmelzpunkt: 282°C

R_f-Wert: 0,40 (EtOH) (Base)

IR (KBr, cm⁻¹): 3460, 3151, 2945, 2624, 1606, 1484, 1434, 1304

MG: C₁₈H₂₁Cl₂NO (338,28 g/mol)



Elementaranalyse:

gemessen: C(%)= 62,30; H(%)= 6,42; N(%)= 3,70

berechnet für C₁₈H₂₁Cl₂NO x 1/2 H₂O: C(%)= 62,25; H(%)= 6,39; N(%)= 4,03

GC/MS: t_R= 20.66 min.

m/z (% rel. Int.) = 301 [M]⁺ (51.1), 286(14.8), 266(23.2), 243(54.0), 229(54.2), 208(51.9), 196(74.2), 178(37), 165(59.5), 146(99.1), 132(19.5), 115(45.9), 91(27.8), 71(100.0), 58(96.8)

¹H-NMR (250 MHz, MEOD):

δ (ppm)	Multiplizität	Integration	Zuordnung
2.94	s	3H	N-CH ₃
3.11-3.28	mc	2H	Ph-CH ₂
3.38-3.80	m	6H	Ph-CH ₂ -CH ₂
4.15	s	2H	Ph-CH ₂ -Ph
6.90-6.96	d (J = 8.5 Hz)	1H	arom., H2
7.20-7.34	mc	4H	arom., H1, H10-12
7.47-7.55	dd (J = 2.7, 5.7 Hz)	1H	arom., H13

¹³C-NMR + DEPT ([D₆]-DMSO):

δ (ppm)	Zuordnung	δ (ppm)	Zuordnung
23.87	Ph-CH ₂ , C5	127.20	arom., C11
26.98	Ph-CH ₂ , C9	129.25	arom., C1
35.54	Ph-CH ₂ -Ph	130.51	arom., C13
42.79	N-CH ₃	130.60	arom., C14a
52.95	Ph-CH ₂ -CH ₂	131.15	arom., C10
53.12	Ph-CH ₂ -CH ₂	136.02	arom., C4a
115.23	arom., C2	136.28	arom., C9a
120.22	arom., C4	139.38	arom., C13a
126.89	arom., C12	151.92	arom., C3

B) In einem 100ml-Rundkolben werden 80 mg (0,19 mmol) 4-Chloro-3-hydroxy-7-methyl-5,6,8,9-tetrahydro-13bH-dibenzo[a,h]chinoliziniumiodid (**154**) in 50 ml Ethanol gelöst und mit 80 mg PtO₂ versetzt. Der Kolben wird mit einem Gaseinleitungsrohr mit Federsicherung verschlossen, das über zwei Ventile reguliert werden kann. Nach Evakuierung dieses Reaktionsgefäßes mit Stickstoff wird ein mit Wasserstoff gefüllter Gasballon an das Einleitungsrohr angeschlossen, durch Öffnen beider Ventile wenig Wasserstoff durchgeblasen und anschließend der Ausgang durch das zweite Ventil verschlossen. Bei Normaldruck wird 50 h hydriert. Anschließend filtriert man ab, entfernt das Lösungsmittel im Vakuum und nimmt den Rückstand in 50 ml Wasser auf. Man extrahiert mit 3x30 ml CH₂Cl₂, trocknet die org. Phase über MgSO₄, filtriert und dampft ab. Das verbleibende helle Öl wurde gaschromatographisch als das gewünschte Produkt identifiziert und nicht weiter bearbeitet.

Ausbeute: 10 mg, 17 %, helles Öl

Die analytischen Daten stimmen mit den unter A) angegebenen überein.

2,4-Dichloro-3-hydroxy-7-methyl-5,6,7,8,9,14-hexahydrodibenz[d,g]azecin-Hydrochlorid (69)

Die Synthese erfolgt unter gleichen Bedingungen, wie bei 3-Hydroxy-7-methyl-5,6,7,8,9,14-hexahydrodibenz[d,g]azecin-Hydrochlorid (**62**) beschrieben (A). Hier wurde nur die andere Substanzbande mit dem entsprechenden R_f -Wert weiter bearbeitet.

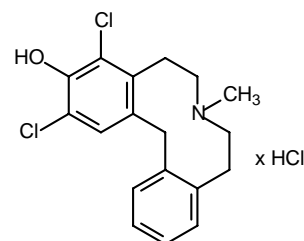
Ausbeute: 0,11 g, 40 %, weißer Feststoff

Schmelzpunkt: 217°C

R_f -Wert: 0,72 (EtOH) (Base)

IR (KBr, cm^{-1}): 3430, 2945, 1570, 1517, 1466, 1312

MG: $\text{C}_{18}\text{H}_{20}\text{Cl}_3\text{NO}$ (372,72 g/mol)



Hochauflösende Masse:

gemessen: 336,0917

berechnet für $\text{C}_{18}\text{H}_{20}\text{Cl}_2\text{NO}$: 336,0922

Elementaranalyse:

gemessen: C(%)= 62,40; H(%)= 5,69; N(%)= 3,83

berechnet für $\text{C}_{18}\text{H}_{19}\text{Cl}_2\text{NO} \times \frac{1}{2} \text{H}_2\text{O}$: C(%)= 62,62; H(%)= 5,84; N(%)= 4,06

GC/MS: t_R = 22.72 min.

m/z (% rel. Int.) = 335 $[\text{M}-\text{H}]^+$ (45.1), 320(13.3), 300(31.0), 276(34.7), 263(21.9), 242(35.9), 230(58.1), 222(20.0), 208(22.9), 199(11.6), 189(18.8), 178(30.3), 165(32.4), 146(95.3), 132(20.1), 115(35.0), 103(11.9), 91(16.9), 71(100.0), 58(92.4)

^1H -NMR (250 MHz, $\text{CF}_3\text{COOD}/[\text{D}_6]\text{-DMSO}$):

δ (ppm)	Multiplizität	Integration	Zuordnung
2.81-2.91	s	3H	N-CH ₃
2.91-3.04	mc	2H	Ph-CH ₂
3.20-3.65	mc	6H	Ph-CH ₂ -CH ₂
4.03-4.22	d	2H	Ph-CH ₂ -Ph
7.10-7.30	mc	3H	arom., H10-12
7.30-7.35	s	1H	arom., H1
7.44-7.53	dd	1H	arom., H13

^{13}C -NMR + DEPT ($\text{CF}_3\text{COOD}/[\text{D}_6]\text{-DMSO}$):

δ (ppm)	Zuordnung	δ (ppm)	Zuordnung
23.36	Ph-CH ₂	126.61	arom., C11
26.26	Ph-CH ₂	128.60	arom., C4a
34.51	Ph-CH ₂ -Ph	129.89	arom., C12
42.60	N-CH ₃	130.41	arom., C13
52.49	Ph-CH ₂ -CH ₂	131.32	arom., C10
52.82	Ph-CH ₂ -CH ₂	134.14	arom., quart.
119.88	arom., C2	134.88	arom., quart.
122.31	arom., C4	138.03	arom., quart.
126.34	arom., C1	146.99	arom., C3

7-Ethyl-3-hydroxy-5,6,8,9-tetrahydro-13bH-dibenzo[a,h]chinoliziniumbromid (65)

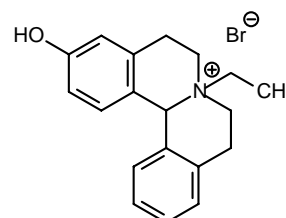
0,58 g (1,97 mmol) 3-Methoxy-7-ethyl-5,6,8,9-tetrahydro-13bH-dibenzo[a,h]chinoliziniumiodid (**64**) werden unter Stickstoffatmosphäre bei 120°C 4 h in 50 ml 47%iger HBr-Lösung erhitzt. Abdampfen des Lösungsmittels und Umkristallisation des verbleibenden Feststoffs aus Aceton führt zu einem weißen Feststoff.

Ausbeute: 0,14 g, 25 %, weißer Feststoff

Schmelzpunkt: 213°C

IR (KBr, cm^{-1}): 3370, 1618, 1458, 1251, 771

MG: $\text{C}_{19}\text{H}_{22}\text{BrNO}$ (360,29 g/mol)



Hochauflösende Masse:

gemessen: 280,1702

berechnet für $\text{C}_{19}\text{H}_{22}\text{NO}$: 280,1701

$^1\text{H-NMR}$ (250 MHz, $[\text{D}_6]$ -DMSO):

δ (ppm)	Multiplizität	Integration	Zuordnung
1.27-1.45	t	3H	N-CH ₂ -CH ₃
2.99-3.28	mc	4H	Ph-CH ₂
3.40-3.55	q	2H	N-CH ₂ -CH ₃
3.58-3.98	mc	4H	Ph-CH ₂ -CH ₂
5.89	s	1H	Ph-CH-Ph
6.70-6.80	mc ($J = 6.3$ Hz)	2H	arom., H2, H4
6.87-6.98	dd ($J = 6.3$ Hz)	1H	arom., H1
7.09-7.19	d ($J = 7.3$ Hz)	1H	arom., H10
7.27-7.45	mc	3H	arom., H11-13

7-Ethyl-3-hydroxy-5,6,7,8,9,14-hexahydrodibenz[d,g]azecin-Hydrochlorid (67)

In einen mit 0,14 g (0,34 mmol) 7-Ethyl-3-hydroxy-5,6,8,9-tetrahydro-13bH-dibenzo[a,h]chinoliziniumbromid (**65**) versetzten 100ml-Dreihalskolben, der mit einem Gaseinleitungsrohr, einem Luftballon zur Druckregulation und einem Stopfen verschlossen ist, wird unter Kühlung mit flüssigem Stickstoff ca. 50 ml Ammoniak einkondensiert. Anschließend wird das Kühlbad entfernt und der Ansatz bei ca. -40°C unter Stickstoffatmosphäre zügig mit kleinen Natriumstücken (ca. 4x4x4mm) versetzt, bis eine tiefblaue Farbe bestehen bleibt. Nach Beenden der Zugabe wird die Reaktion nach 24 min. durch Hinzufügen gesättigter Ammoniumchloridlösung, bis zum Verschwinden der Färbung, abgebrochen. Nach Abdampfen des Ammoniaks bei Raumtemperatur unter Stickstoffatmosphäre wird der Rückstand in 50 ml Wasser aufgenommen, mit 5%iger HCl-Lösung auf pH 9 gebracht und mit 3x30 ml Ether extrahiert, über Magnesiumsulfat getrocknet und im Vakuum abgedampft. Das verbleibende Öl wird in Ether aufgenommen und mit etherischer HCl-Lösung versetzt. Der entstandene Niederschlag wird aus EtOH/Ether umkristallisiert.

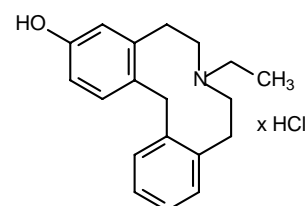
Ausbeute: 42 mg, 39 %, weiße Kristalle

Schmelzpunkt: 242°C (HCl)

R_f -Wert: 0,35 (CHCl_3 /10%MeOH) (Base)

IR (KBr, cm^{-1}): 3410, 3079, 2626, 1617, 1452, 1246, 986, 756

MG: $\text{C}_{19}\text{H}_{24}\text{ClNO}$ (317,85 g/mol)



Elementaranalyse:

gemessen: C(%)= 71,67; H(%)= 7,63; N(%)= 4,41
 berechnet für C₁₉H₂₄CINO: C(%)= 71,80; H(%)= 7,61; N(%)= 4,41

GC/MS: t_R= 24.44 min.

m/z (% rel. Int.) = 281 [M]⁺ (40.0), 266(7.7), 252(10.5), 223(8.0), 209(65.8), 195(58.6), 176(53.9), 160(42.4), 152(13.7), 133(18.7), 115(35.0), 105(15.7), 91(24.4), 72(56.6), 58(100.0)

¹H-NMR (250 MHz, [D₆]-DMSO):

δ (ppm)	Multiplizität	Integration	Zuordnung
1.25-1.40	t	3H	N-CH ₂ -CH ₃
2.90-3.25	mc	6H	N-CH ₂ -CH ₃ , Ph-CH ₂
3.25-3.53	mc	4H	Ph-CH ₂ -CH ₂
3.83-4.20	dd (J = 14.7 Hz)	2H	Ph-CH ₂ -Ph
6.55-6.61	d (J = 2.5 Hz)	1H	arom., H4
6.61-6.67	dd (J = 2.5, 8.4 Hz)	1H	arom., H2
7.12-7.29	mc (J = 8.4 Hz)	4H	arom., H1, H10-12
7.41-7.50	dd	1H	arom., H13
9.38	s	1H	OH
10.59	s	1H	N-H ⁺

¹³C-NMR ([D₆]-DMSO):

δ (ppm)	Zuordnung	δ (ppm)	Zuordnung
9.40	N-CH ₂ -CH ₃	129.31	arom., C14a
27.83	2x Ph-CH ₂ -Ph	130.28	arom., C 13
51.44	N-CH ₂ -CH ₃	130.60	arom., C10
53.02	2x Ph-CH ₂ -CH ₂	131.46	arom., C1
114.30	arom., C2	136.54	arom., C13a
116.51	arom., C4	137.97	arom., C9a
126.60	arom., C11	139.93	arom., C4a
127.05	arom., C12	155.91	arom., C3

3-Hydroxy-7-methyl-2-nitro-5,6,8,9-tetrahydro-13bH-dibenzo[a,h]chinoliziniumiodid (72)

0,5 g (2 mmol) 3-Hydroxy-5,6,8,9-tetrahydro-13bH-dibenzo[a,h]chinolizin (**70**) werden in 50 ml CH₂Cl₂ gelöst und unter Rühren und Eiskühlung tropfenweise mit einem Gemisch aus 8 ml Eisessig und 8 ml konz. HNO₃ versetzt. Es wird noch 2 h gerührt und anschließend mit 10%iger NaOH-Lösung auf pH 7 gebracht. Man extrahiert mit 5x40 ml CH₂Cl₂, trocknet über MgSO₄ und dampft ab. Nach Versetzen des Rückstandes mit wenig Ethylacetat fällt ein grünlich-schwarzer Feststoff aus, der nicht weiter gereinigt werden konnte.

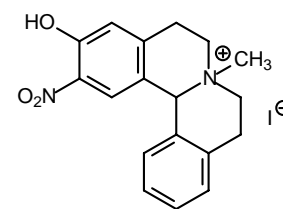
Dieser Feststoff wird in 50 ml trockenem Aceton gelöst, mit 6 ml Methyljodid versetzt und unter Rühren und Stickstoffatmosphäre bei 50°C 24 h erhitzt. Nach dem Abkühlen bildet sich ein grüner Feststoff, der abfiltriert, mit wenig Aceton gewaschen und im Vakuum getrocknet wird.

Ausbeute: 0,23 g, 70 %, grüner Feststoff

Schmelzpunkt: 235°C

IR (KBr, cm^{-1}): 3447, 3254, 2881, 1632, 1574, 1522, 1335

MG: $\text{C}_{18}\text{H}_{19}\text{N}_2\text{O}_3$ (438,26 g/mol)



Hochauflösende Masse:

gemessen: 311,1394

berechnet für $\text{C}_{18}\text{H}_{19}\text{N}_2\text{O}_3$: 311,1396

^1H -NMR (250 MHz, $[\text{D}_6]$ -DMSO):

δ (ppm)	Multiplizität	Integration	Zuordnung
3.20	s	3H	N- CH_3
3.20-3.33	mc	4H	Ph- CH_2
3.72-3.98	mc	4H	Ph- CH_2 - CH_2
5.93	s	1H	Ph-CH-Ph
7.10	s	1H	arom., H4
7.19-7.27	dd	1H	arom., H10
7.35-7.50	mc	3H	arom., H11-13
7.66	s	1H	arom., H1

2-Amino-3-hydroxy-7-methyl- 5,6,7,8,9,14-hexahydrodibenz[d,g]azecin (73)

In einen mit 0,14 g (0,32 mmol) 3-Hydroxy-7-methyl-2-nitro-5,6,8,9-tetrahydro-13bH-dibenzo[a,h]chinoliziniumiodid (**72**) versetzten 100ml-Dreihalskolben, der mit einem Gaseinleitungsrohr, einem Luftballon zur Druckregulation und einem Stopfen verschlossen ist, wird unter Kühlung mit flüssigem Stickstoff ca. 40 ml Ammoniak einkondensiert. Anschließend wird das Kühlbad entfernt und der Ansatz bei ca. -40°C unter Stickstoffatmosphäre zügig mit kleinen Natriumstücken (ca. 4x4x4mm) versetzt, bis eine tiefblaue Farbe bestehen bleibt. Nach Beenden der Zugabe wird die Reaktion nach 17 min. durch Hinzufügen gesättigter Ammoniumchloridlösung, bis zum Verschwinden der Färbung, abgebrochen. Nach Abdampfen des Ammoniaks bei Raumtemperatur unter Stickstoffatmosphäre wird der Rückstand in 50 ml 2N-HCl-Lösung aufgenommen, mit 3x20 ml Ether ausgeschüttelt und die org. Phase verworfen. Anschließend stellt man den pH-Wert auf 7 ein und extrahiert mit 5x15 ml CH_2Cl_2 , trocknet über MgSO_4 , filtriert ab und entfernt das Lösungsmittel im Vakuum. Der verbleibende Rückstand wird aus Ether/Ethanol umkristallisiert.

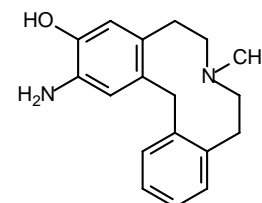
Ausbeute: 70 mg, 60 %, violetter Feststoff

Schmelzpunkt: 145°C

Rf-Wert: 0,12 (EtOH)

IR (KBr, cm^{-1}): 3382, 2945, 2778, 1619, 1522, 1445, 1290, 755

MG: $\text{C}_{18}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}$ (282,38 g/mol)



Elementaranalyse:

gemessen: C(%)= 75,34; H(%)= 8,31; N(%)= 9,59

berechnet für $\text{C}_{18}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O} \times \frac{1}{3} \text{H}_2\text{O}$: C(%)= 75,36; H(%)= 7,91; N(%)= 9,76

GC/MS: t_R = 22.66 min.

m/z (% rel. Int.) = 282 $[\text{M}]^{+*}$ (100.0), 267(11.6), 253(2.8), 239(17.0), 224(67.9), 210(56.4), 194(21.0), 177(60.5), 165(35.9), 146(62.1), 135(28.1), 115(18.8), 103(8.0), 91(9.2), 71(24.1), 58(69.8)

¹H-NMR (250 MHz, CDCl₃):

δ (ppm)	Multiplizität	Integration	Zuordnung
2.18	s	3H	N-CH ₃
2.44-2.59	mc	2H	Ph-CH ₂
2.59-2.78	mc	6H	Ph-CH ₂ -CH ₂
4.10	s	2H	Ph-CH ₂ -Ph
4.10-4.60	brs	3H	NH ₂ , OH
6.33	s	1H	arom., H4
6.54	s	1H	arom., H1
6.90-6.99	mc (<i>J</i> = 2.7, 6.4 Hz)	1H	arom., H10
6.99-7.10	mc (<i>J</i> = 2.7, 6.3 Hz)	2H	arom., H11, H12
7.15-7.24	mc (<i>J</i> = 2.7, 6.4 Hz)	1H	arom., H13

¹³C-NMR (CDCl₃):

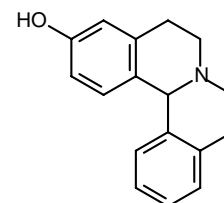
δ (ppm)	Zuordnung	δ (ppm)	Zuordnung
32.90	Ph-CH ₂	130.58	arom., C13
33.24	Ph-CH ₂	130.68	arom., C10
37.24	Ph-CH ₂ -Ph	131.77	arom., quart.
46.42	N-CH ₃	132.21	arom., C2
59.28	Ph-CH ₂ -CH ₂	132.53	arom., quart.
117.32	arom., C1	140.45	arom., quart.
118.85	arom., C4	141.07	arom., quart.
126.17	arom., C12	143.28	arom., C3
126.24	arom., C11		

3-Hydroxy-5,6,8,9-tetrahydro-13b*H*-dibenzo[*a,h*]chinolizin (70)

8 g (30,2 mmol) 3-Methoxy-5,6,8,9-tetrahydro-13b*H*-dibenzo[*a,h*]chinolizin (**57**) werden unter Stickstoffatmosphäre bei 120°C 4 h in 150 ml 47%iger HBr-Lösung erhitzt. Anschließend wird das Lösungsmittel abgedampft, der Rückstand in 2%iger NaOH-Lösung aufgenommen und mit 3x40 ml Ethylacetat extrahiert. Die org. Phase wird verworfen. Nach Einstellen der wässrigen Phase auf pH 9 extrahiert man mit 5x40 ml CH₂Cl₂/Isopropanol (3/1), dampft ab und kristallisiert aus wenig Isopropanol um. Das Produkt kristallisiert nach einigen Tagen.

Ausbeute: 2,4 g, 31 %, weißes Pulver

Schmelzpunkt: 219-222°C

R_F-Wert: 0,10 (CHCl₃/5%MeOH)IR (KBr, cm⁻¹): 3434, 2907, 2598, 1612, 1446, 1255, 807, 740, 675MG: C₁₇H₁₇NO (251,32 g/mol)

Hochauflösende Masse:

gemessen: 252,1393

berechnet für C₁₇H₁₈NO: 252,1388GC/MS: t_R = 21.10 min.

m/z (% rel. Int.) = 250 [M-H]⁺ (100.0), 235(3.0), 222(13.6), 206(2.4), 194(1.9), 178(2.4), 165(3.6), 146(4.9), 130(3.7), 115(4.6), 105(5.1), 91(3.9), 77(5.1), 65(1.9), 51(1.9)

¹H-NMR (250 MHz, [D₆]-DMSO):

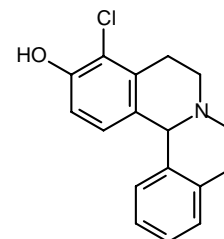
δ (ppm)	Multiplizität	Integration	Zuordnung
2.60-2.88	mc	4H	Ph-CH ₂
2.88-3.17	mc	4H	Ph-CH ₂ -CH ₂
4.90	s	1H	Ph-CH-Ph
6.51-6.60	dd (<i>J</i> = 2.5, 8.1 Hz)	1H	arom., H2
6.54	s	1H	arom., H4
6.90-6.98	d (<i>J</i> = 8.1 Hz)	1H	arom., H1
7.07-7.21	mc	5H	arom., H10-13
9.19	s	1H	OH

2-Chloro-3-hydroxy-5,6,8,9-tetrahydro-13bH-dibenzo[a,h]chinolizin (153)

0,3 g (1,2 mmol) 3-Hydroxy-5,6,8,9-tetrahydro-13bH-dibenzo[a,h]chinolizin (**70**) werden in 10 ml Eisessig gelöst, unter Kühlung tropfenweise mit 0,2 g (1,48 mmol) Sulfurylchlorid versetzt und bei Raumtemperatur 2 ½ h gerührt. Anschließend stellt man mit NaOH-Lösung auf pH 9 ein und extrahiert mit 3x30 ml CH₂Cl₂. Die org. Phase wird nochmals mit einer auf pH 9 eingestellten wäßrigen NaOH-Lösung extrahiert, über MgSO₄ getrocknet und abfiltriert. Nach Abdampfen des Lösungsmittels wird aus Aceton umkristallisiert. Es entsteht ein hellgelber Feststoff, der im Vakuum getrocknet wird.

Ausbeute: 0,2 g, 58 %, hellgelber Feststoff

Schmelzpunkt: 168°C

R_f-Wert: 0,50 (EtOH)IR (KBr, cm⁻¹): 3040, 2920, 1645, 1476, 1301, 1186, 753MG: C₁₇H₁₆ClNO (285,77 g/mol)

Elementaranalyse:

gemessen:

C(%)= 71,12; H(%)= 5,55; N(%)= 4,98

berechnet für C₁₇H₁₆ClNO:

C(%)= 71,45; H(%)= 5,64; N(%)= 4,90

GC/MS: t_R = 20.88 min.

m/z (% rel. Int.) = 284 [M-H]⁺ (100.0), 269(3.1), 250(23.3), 233(1.5), 222(5.1), 204(2.6), 194(3.6), 180(5.2), 165(5.1), 143(1.7), 130(6.1), 115(7.3), 105(8.6), 91(4.3), 77(5.9), 63(2.8), 51(2.7)

¹H-NMR (250 MHz, [D₆]-DMSO):

δ (ppm)	Multiplizität	Integration	Zuordnung
2.55-2.87	mc	4H	Ph-CH ₂
2.88-3.17	mc	4H	Ph-CH ₂ -CH ₂
4.93	s	1H	Ph-CH-Ph
6.76-6.83	d (<i>J</i> = 8.4 Hz)	1H	arom., H2
6.90-6.97	d (<i>J</i> = 8.4 Hz)	1H	arom., H1
7.06-7.20	mc	4H	arom.
9.70-10.20	s	1H	OH

4-Chloro-3-hydroxy-7-methyl-5,6,8,9-tetrahydro-13bH-dibenzo[a,h]chinoliziniumiodid (154)

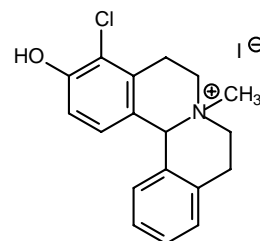
0,2 g (0,7 mmol) 4-Chloro-3-hydroxy-5,6,8,9-tetrahydro-13bH-dibenzo[a,h]chinolizin (**153**) werden in 20 ml trockenem Aceton gelöst, mit 0,14 g (1mmol) Methyljodid versetzt und unter Argon bei 50°C 18 h lang gerührt. Der entstandene Niederschlag wird abfiltriert, mit wenig Aceton gewaschen und im Vakuum getrocknet.

Ausbeute: 0,16 g, 53 %, weißer Feststoff

Schmelzpunkt: 234°C

IR (KBr, cm^{-1}): 3485, 3087, 1619, 1574, 1490, 1438, 1290, 816

MG: $\text{C}_{18}\text{H}_{19}\text{ClINO}$ (427,71 g/mol)



Elementaranalyse:

gemessen:

C(%)= 50,80; H(%)= 4,30; N(%)= 3,25

berechnet für $\text{C}_{18}\text{H}_{19}\text{ClINO}$:

C(%)= 50,55; H(%)= 4,48; N(%)= 3,27

$^1\text{H-NMR}$ (250 MHz, $[\text{D}_6]$ -DMSO):

δ (ppm)	Multiplizität	Integration	Zuordnung
3.03-3.27	mc	4H	2x Ph-CH ₂
3.16	s	3H	N-CH ₃
3.71-3.90	mc	4H	2x Ph-CH ₂ -CH ₂
5.87	s	2H	Ph-CH-Ph
6.97	s	2H	arom.
7.07-7.15	d ($J = 7.6$ Hz)	1H	arom.
7.26-7.44	mc	3H	arom.
10.53	s	1H	OH

3-Hydroxy-5,6,8,9-tetrahydro-13bH-dibenzo[a,h]chinolizinium-N-oxid (74)

0,9 g (3,6 mmol) 3-Hydroxy-5,6,8,9-tetrahydro-13bH-dibenzo[a,h]chinolizin (**70**) werden in 25 ml Chloroform suspendiert und unter Eiskühlung und Rühren tropfenweise mit 0,89 g (5,14 mmol) 70%iger m-Chlorperbenzoesäure, gelöst in 25 ml Chloroform, versetzt. Nach 4 h Rühren bei Raumtemperatur wird das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und säulenchromatographisch mit Ethanol über basischem Aluminiumoxid gereinigt. Das Produkt wird im Vakuum getrocknet.

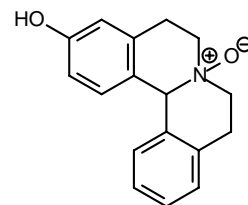
Ausbeute: 0,28 g, 29 %, weißer Feststoff

Schmelzpunkt: 218°C

R_f -Wert: 0,07 (EtOH)

IR (KBr, cm^{-1}): 3447, 2920, 2457, 1778, 1587, 1497, 1300, 1255

MG: $\text{C}_{17}\text{H}_{17}\text{NO}_2$ (267,32 g/mol)



Hochauflösende Masse:

gemessen:

268,1334

berechnet für $\text{C}_{17}\text{H}_{18}\text{NO}_2$:

268,1337

¹H-NMR (250 MHz, CF₃COOD):

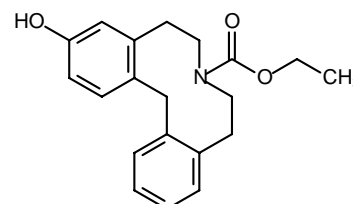
δ (ppm)	Multiplizität	Integration	Zuordnung
2.25-2.55	mc	2H	Ph-CH ₂
2.55-2.80	mc	2H	Ph-CH ₂
3.10-3.45	mc	4H	Ph-CH ₂ -CH ₂
4.96	s	1H	Ph-CH-Ph
6.00-6.15	mc	2H	arom.
6.15-6.33	mc	2H	arom.
6.35-6.68	mc	3H	arom.

3-Hydroxy-5,8,9,14-tetrahydrodibenz[d,g]azecin-7(6H)-ethylcarboxylat (76)

0,3 g (1,2 mmol) 3-Hydroxy-5,6,8,9-tetrahydro-13b*H*-dibenzo[*a,h*]chinolizin (**70**) werden in 50 ml trockenem THF gelöst und in einem Methanol/Trockeneisbad unter Stickstoffatmosphäre gekühlt. Bei -76°C wird unter Rühren durch ein Septum tropfenweise 0,64 ml (6,7 mmol) Chlorameisensäureethylester zugegeben, woraufhin eine Trübung entsteht. Es wird noch 4 h gerührt und die nun klare Lösung mit 0,25 g (4,1 mmol) Natriumcyanoborhydrid, gelöst in 6 ml trockenem THF, versetzt. Man rührt über Nacht und erwärmt langsam auf Raumtemperatur. Die entstandene Suspension wird mit 120 ml 2N NaOH-Lösung alkalisiert und mit NaCl gesättigt. Die sich langsam absetzende THF-Phase wird abgetrennt und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Die wässrige Phase extrahiert man mit 2x30 ml CH₂Cl₂, vereinigt die org. Phase mit dem THF-Rückstand und wäscht mit 20 ml Wasser. Nach Abtrennen der CH₂Cl₂-Phase wird über MgSO₄ getrocknet und abgedampft. Das verbleibende Öl kristallisiert aus Toluol.

Ausbeute: 0,35 g, 90 %, weißes Pulver

Schmelzpunkt: 208°C

R_F-Wert: 0,79 (EtOH)IR (KBr, cm⁻¹): 3261, 2931, 2357, 1665, 1612, 1490, 1447MG: C₂₀H₂₃NO₃ (325,41 g/mol)

Elementaranalyse:

gemessen: C(%)= 72,93; H(%)= 7,01; N(%)= 4,21

berechnet für C₂₀H₂₃NO₃ x 1/5 H₂O: C(%)= 73,01; H(%)= 7,17; N(%)= 4,26GC/MS: t_R= 23.87 min.

m/z (% rel. Int.) = 325 [M]⁺ (13.0), 296(7.1), 279(1.7), 252(2.0), 233(1.7), 220(23.8), 209(7.5), 194(9.4), 178(5.4), 165(8.9), 148(5.8), 132(4.3), 116(11.2), 104(100.0), 91(5.4), 77(4.3), 65(1.7)

¹H-NMR (250 MHz, [D₆]-DMSO):

δ (ppm)	Multiplizität	Integration	Zuordnung
0.65-0.88	dt (<i>J</i> = 7.1 Hz)	3H	O-CH ₂ -CH ₃
2.30-2.44	mc	2H	Ph-CH ₂
2.67-2.87	mc	2H	Ph-CH ₂
3.34-3.53	mc	4H	Ph-CH ₂ -CH ₂
3.55-3.77	ddd (<i>J</i> = 7.1 Hz)	2H	O-CH ₂ -CH ₃
3.85	s	2H	Ph-CH ₂ -Ph
6.46-6.59	mc	2H	arom., H2, H4
6.85-7.03	dd	1H	arom.

δ (ppm)	Multiplizität	Integration	Zuordnung
7.03-7.25	mc	4H	arom.
9.00-9.20	brd	1H	OH

^{13}C -NMR ($[\text{D}_6]$ -DMSO):

δ (ppm)	Zuordnung
14.02	O-CH ₂ -CH ₃
32.12	Ph-CH ₂
33.12	Ph-CH ₂
36.44	Ph-CH ₂ -Ph
50.95	Ph-CH ₂ -CH ₂
52.38	Ph-CH ₂ -CH ₂
60.05	O-CH ₂ -CH ₃
113.89	arom., C2
117.66	arom., C4
126.14	arom., C12

δ (ppm)	Zuordnung
126.33	arom., C11
129.54	arom., C13
130.33	arom., C10
130.84	arom., C14a
131.58	arom., C1
139.30	arom., quart.
140.10	arom., quart.
140.68	arom., quart.
155.34	arom., C3
155.51	O=C-O

3-Hydroxy-5,6,7,8,9,14-hexahydrodibenz[*d,g*]azecin (75)

0,2 g (0,61 mmol) 3-Hydroxy-5,8,9,14-tetrahydrodibenz[*d,g*]azecin-7(6*H*)-ethylcarboxylat (**76**) werden in 10 ml Toluol suspendiert, mit 4 Tropfen BBr_3 versetzt und unter Stickstoffatmosphäre bei 120°C 2 ½ h gerührt. Nach dem Abkühlen versetzt man mit 10 ml Wasser, extrahiert, trennt ab und wäscht die wässrige Phase mit 2x10 ml CH_2Cl_2 . Die beiden org. Phasen werden verworfen. Anschließend wird die wässrige Phase mit 25%igem Ammoniak alkalisiert, mit 3x20 ml CH_2Cl_2 extrahiert und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Der verbleibende Rückstand wird aus wenig Ether umkristallisiert. Es entsteht ein gelber, sehr leichter Feststoff, der im Vakuum getrocknet wird.

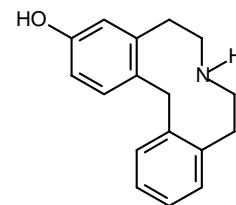
Ausbeute: 33 mg, 21 %, gelber Feststoff

Schmelzpunkt: 112°C, HCl: 278°C

R_f -Wert: 0,21 (EtOH)

IR (KBr, cm^{-1}): 3434, 2920, 1606, 1453, 1255, 745

MG: $\text{C}_{17}\text{H}_{19}\text{NO}$ (53,34 g/mol)



Elementaranalyse:

gemessen: C(%) = 77,23; H(%) = 7,45; N(%) = 5,65

berechnet für $\text{C}_{17}\text{H}_{19}\text{NO} \times \frac{3}{5} \text{H}_2\text{O}$: C(%) = 77,30; H(%) = 7,71; N(%) = 5,30

GC/MS: t_R = 21.28 min.

m/z (% rel. Int.) = 253 [$\text{M}]^+$ (52.6), 238(7.5), 221(15.0), 209(50.5), 195(59.9), 178(20.0), 165(36.7), 148(100.0), 132(86.0), 119(31.0), 104(29.4), 91(22.1), 77(20.0), 65(9.1), 57(13.0)

^1H -NMR (HCl) (250 MHz, $[\text{D}_6]$ -DMSO):

δ (ppm)	Multiplizität	Integration	Zuordnung
3.00-3.30	mc	8H	Ph-CH ₂ -CH ₂
3.99	s	2H	Ph-CH ₂ -Ph
6.60-6.70	dd, d (J = 2.7, 8.1 Hz)	2H	arom., H2, H4
7.12-7.26	mc	3H	arom., H10-12
7.26-7.35	d (J = 8.1 Hz)	1H	arom., H1

δ (ppm)	Multiplizität	Integration	Zuordnung
7.44-7.54	mc	1H	arom., H13
8.80-9.00	brs	2H	NH ₂ ⁺
9.30-9.50	brs	1H	OH

¹³C-NMR ([D₆]-DMSO):

δ (ppm)	Zuordnung	δ (ppm)	Zuordnung
28.31	Ph-CH ₂	129.83	arom., C14a
28.42	Ph-CH ₂	130.19	arom., C13
34.03	Ph-CH ₂ -Ph	130.58	arom., C10
46.84	Ph-CH ₂ -CH ₂	131.52	arom., C1
47.06	Ph-CH ₂ -CH ₂	135.89	arom., quart.
114.53	arom., C2	137.08	arom., quart.
116.16	arom., C4	140.38	arom., quart.
126.58	arom., C12	155.99	arom., C3
126.96	arom., C11		

3-Hydroxy-7-(2-hydroxyethyl)-5,6,8,9-tetrahydro-13bH-dibenzo[a,h]chinolizinium-bromid (77)

1,2 g (4,77 mmol) 3-Hydroxy-5,6,8,9-tetrahydro-13bH-dibenzo[a,h]chinolizin (**70**) werden in 20 ml Toluol suspendiert, unter Rühren mit 5 g (40 mmol) 2-Bromethanol versetzt und unter Stickstoffatmosphäre bei 80°C 24 h erhitzt, wobei sich die Suspension in der Hitze auflöst. Über Nacht bildet sich ein weißer Niederschlag, der nach dem Abkühlen abfiltriert, mit wenig Aceton gewaschen und im Vakuum getrocknet wird.

Ausbeute: 1,85 g, 100 %, weißes Pulver

Schmelzpunkt: 199°C

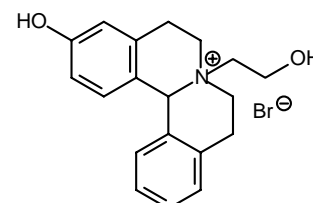
IR (KBr, cm⁻¹): 3318, 3144, 1625, 1587, 1498, 1267, 1088, 763

MG: C₁₉H₂₂BrNO₂ (376,29 g/mol)

Hochauflösende Masse:

gemessen: 296,1644

berechnet für C₁₉H₂₂NO₂: 296,1650



¹H-NMR (250 MHz, [D₆]-DMSO):

δ (ppm)	Multiplizität	Integration	Zuordnung
3.00-3.30	m	4H	Ph-CH ₂
3.45-3.59	t	2H	N-CH ₂ -CH ₂ -OH
3.67-4.04	m	6H	N-CH ₂ -CH ₂ -OH, Ph-CH ₂ -CH ₂
5.35-5.44	t	1H	N-CH ₂ -CH ₂ -OH
5.96	s	1H	Ph-CH-Ph
6.70-6.76	mc (<i>J</i> = 7.0 Hz)	2H	arom., H2, H4
6.85-6.93	dd (<i>J</i> = 7.0 Hz)	1H	arom., H1
7.07-7.17	d (<i>J</i> = 7.6 Hz)	1H	arom., H10
7.28-7.45	mc	3H	arom., H11-13
9.78	s	1H	Ph-OH

3-Hydroxy-7-(2-hydroxyethyl)-5,6,7,8,9,14-hexahydrodibenz[*d,g*]azecin-Hydrochlorid (78)

In einen mit 0,1 g (0,27 mmol) 3-Hydroxy-7-(2-hydroxyethyl)-5,6,8,9-tetrahydro-13*bH*-dibenzo[*a,h*]chinoliziniumbromid (**77**) versetzten 100ml-Dreihalskolben, der mit einem Gaseinleitungsrohr, einem Luftballon zur Druckregulation und einem Stopfen verschlossen ist, wird unter Kühlung mit flüssigem Stickstoff ca. 50 ml Ammoniak einkondensiert. Anschließend wird das Kühlbad entfernt und der Ansatz bei ca. -40°C unter Stickstoffatmosphäre zügig mit kleinen Natriumstücken (ca. 4x4x4mm) versetzt, bis eine tiefblaue Farbe bestehen bleibt. Nach Beenden der Zugabe wird die Reaktion nach 8 min. durch Hinzufügen gesättigter Ammoniumchloridlösung, bis zum Verschwinden der Färbung, abgebrochen. Nach Abdampfen des Ammoniaks bei Raumtemperatur unter Stickstoffatmosphäre wird der Rückstand in 50 ml Wasser aufgenommen, mit 5%iger HCl-Lösung auf pH 9 gebracht und mit 3x30 ml Ether ausgeschüttelt. Die Ether-Phase wird über Magnesiumsulfat getrocknet, abfiltriert und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Das verbleibende Öl wird in wenig EtOH aufgenommen und säulenchromatographisch über Kieselgel 60 mit EtOH gereinigt. Nach Abdampfen des Lösungsmittels nimmt man in Ether auf und versetzt mit etherischer HCl-Lösung. Der Niederschlag wird aus EtOH/Ether umkristallisiert.

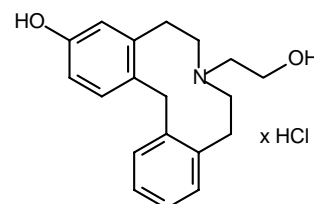
Ausbeute: 15 mg, 17 %, weißes Feststoff

Schmelzpunkt: 228°C

R_f-Wert: 0,31 (EtOH) (Base)

IR (KBr, cm⁻¹): 3395, 1617, 1445, 1226, 1082

MG: C₁₉H₂₄ClNO₂ (333,85 g/mol)



Elementaranalyse:

gemessen: C(%)= 64,33; H(%)= 7,27; N(%)= 3,83

berechnet für C₁₉H₂₄ClNO₂ x H₂O: C(%)= 64,86; H(%)= 7,45; N(%)= 3,98

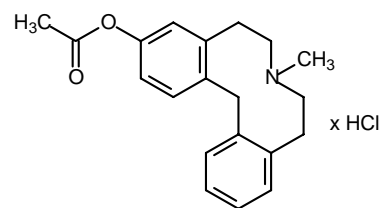
¹H-NMR (250 MHz, MeOD):

δ (ppm)	Multiplizität	Integration	Zuordnung
3.10-3.30	mc	6H	Ph-CH ₂ , N-CH ₂ -CH ₂ -OH
3.42-3.63	mc	4H	Ph-CH ₂ -CH ₂
3.75-3.88	mc	2H	N-CH ₂ -CH ₂ -OH
4.01-4.14	s	2H	Ph-CH ₂ -Ph
6.59-6.70	d, dd (<i>J</i> = 2.4, 8.2 Hz)	2H	arom., H2, H4
7.14-7.30	mc	4H	arom., H1, H10-12
7.40-7.50	mc	1H	arom., H13

7-Methyl-5,6,7,8,9,14-hexahydrodibenz[*d,g*]azecin-3-yl-acetat-Hydrochlorid (79)

0,1 g (0,33 mmol) 3-Hydroxy-7-methyl-5,6,7,8,9,14-hexahydrodibenz[*d,g*]azecinhydrochlorid (**62**) und 10 mg DMAP werden in 15 ml CH₂Cl₂ gelöst. Anschließend versetzt man mit 0,17 g (1,65 mmol) Triethylamin und 3 ml Pyridin, kühlt auf 0°C und gibt tropfenweise 0,17 g (1,65 mmol) Acetanhydrid hinzu. Man erwärmt auf Raumtemperatur und rührt 16 h lang. Anschließend versetzt man mit 20 ml CH₂Cl₂, stellt mit 5%iger NaOH-Lösung den pH-Wert auf 8 ein und extrahiert. Die org. Phase wird mit 20 ml Wasser gewaschen, isoliert und über MgSO₄ getrocknet. Filtration und Abdampfen im Vakuum führt zu einem Öl, welches mit etherischer HCl-Lösung einen Niederschlag bildet und aus Ether/Ethanol umkristallisiert werden kann.

Ausbeute: 20 mg, 18 %, weiße Kristalle
 Schmelzpunkt: 144°C
 R_f -Wert: 0,22 (EtOH) (Base)
 IR (KBr, cm^{-1}): 3447, 2675, 1754, 1638, 1471, 1210
 MG: $\text{C}_{20}\text{H}_{24}\text{ClNO}_2$ (345,87 g/mol)



Elementaranalyse:

gemessen: $\text{C}(\%) = 66,00$; $\text{H}(\%) = 7,54$; $\text{N}(\%) = 3,80$
 berechnet für $\text{C}_{20}\text{H}_{24}\text{ClNO}_2 \times \text{H}_2\text{O}$: $\text{C}(\%) = 66,02$; $\text{H}(\%) = 7,20$; $\text{N}(\%) = 3,85$

GC/MS: $t_R = 20.74$ min.

m/z (% rel. Int.) = 309 [$\text{M}]^{+*}$ (35.9), 294(12.2), 280(2.1), 266(8.0), 250(8.6), 237(5.4), 224(22.1), 209(100.0), 195(63.4), 178(3.6), 165(29.7), 146(52.8), 133(14.3), 115(23.3), 104(7.6), 91(14.4), 71(49.7), 58(44.6)

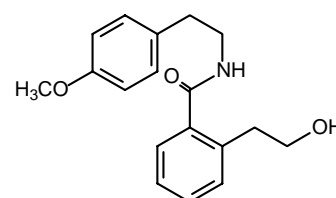
$^1\text{H-NMR}$ (250 MHz, $\text{CDCl}_3/\text{MeOD}$):

δ (ppm)	Multiplizität	Integration	Zuordnung
2.19-2.22	s	3H	$\text{CH}_3\text{-C=O}$
2.77-2.79	s	3H	N-CH_3
3.05-3.30	m	4H	Ph-CH_2
3.33-3.60	m	4H	$\text{Ph-CH}_2\text{-CH}_2$
3.86-4.25	dd	2H	$\text{Ph-CH}_2\text{-Ph}$
6.78-6.83	d ($J = 2.5$ Hz)	1H	arom., H4
6.85-6.93	dd ($J = 2.5, 8.4$ Hz)	1H	arom., H2
7.00-7.20	m	3H	arom., H10-12
7.29-7.40	m ($J = 8.5$ Hz)	2H	arom., H1, H13

2-(2-Hydroxyethyl)-N-[2-(4-methoxyphenyl)ethyl]benzamid (95)

5 g (33 mmol) 2-(4-Methoxyphenyl)ethylamin (**83**) und 4,9 g (33 mmol) Isochromanon (**54**) werden in einem 50 ml Rundkolben bei 120°C 6 h unter Rühren erhitzt. Anschließend wird abgekühlt, das hellbraune Öl in 50 ml Chloroform aufgenommen und mit 2x30 ml 2N-HCl-Lösung extrahiert. Nach Abtrennen der org. Phase wird diese abgedampft und das Öl mit 10 ml Ethylacetat versetzt. Unter Kühlung kristallisiert das Öl nach wenigen Stunden aus. Der weiße Feststoff wird vom Lösungsmittel abfiltriert, mit 50 ml Ether gewaschen und im Vakuum getrocknet.

Ausbeute: 4,5 g, 45 %, weißer Feststoff
 Schmelzpunkt: 91-94°C, Lit.: 93-94°C [Meise, 1976]
 R_f -Wert: 0,64 (EtOH)
 IR (KBr, cm^{-1}): 3255, 3100, 1518, 1228, 1068
 MG: $\text{C}_{18}\text{H}_{21}\text{NO}_3$ (299,4 g/mol)



Elementaranalyse:

gemessen: $\text{C}(\%) = 71,98$; $\text{H}(\%) = 6,88$; $\text{N}(\%) = 4,80$
 berechnet für $\text{C}_{21}\text{H}_{25}\text{NO}_5$: $\text{C}(\%) = 72,22$; $\text{H}(\%) = 7,07$; $\text{N}(\%) = 4,68$

¹H-NMR (250 MHz, CDCl₃):

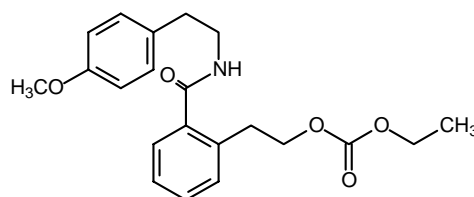
δ (ppm)	Multiplizität	Integration	Zuordnung
2.81-2.94	mc (<i>J</i> = 5.9, 7.0 Hz)	4H	2x Ph-CH ₂
3.60-3.72	q (<i>J</i> = 7.0 Hz)	2H	NH-CH ₂
3.79	s	3H	O-CH ₃
3.80-3.90	t (<i>J</i> = 5.9 Hz)	2H	CH ₂ -OH
4.00-4.17	brs	1H	OH
6.43-6.57	brt	1H	NH
6.82-6.90	dd (<i>J</i> = 2.1, 8.7 Hz)	2H	arom., H3', H5'
7.11-7.19	dd (<i>J</i> = 2.3, 8.8 Hz)	2H	arom., H2', H6'
7.20-7.41	mc (<i>J</i> = 7.1 Hz)	4H	arom.

2-[2-({2-(4-Methoxyphenyl)ethyl}amino)carbonyl]phenyl]ethyl-ethyl-carbonat (96)

4,5 g (15 mmol) 2-(2-Hydroxyethyl)-N-[2-(4-methoxyphenyl)ethyl]benzamid (**95**) werden in einer Mischung aus Pyridin/CHCl₃ (70ml/35ml) gelöst und unter Rühren tropfenweise mit 4,7 g (45 mmol) Chlorameisensäureethylester, gelöst in 35 ml CHCl₃, innerhalb ½ h versetzt. Es wird weitere 60 min. bei Raumtemperatur gerührt, das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und das verbliebene Öl in 100 ml CHCl₃ aufgenommen. Die Lösung wird mit je 2x20 ml 2N-HCl-Lösung, 2N-NaOH-Lösung und Wasser gewaschen, die org. Phase über MgSO₄ getrocknet, abfiltriert und abgedampft. Der ölige Rückstand wird mit wenig Ether versetzt. Durch Kühlen und Ankratzen der Lösung entsteht innerhalb weniger Minuten ein weißer Feststoff, der abfiltriert, mit Ether gewaschen und im Vakuum getrocknet wird.

Ausbeute: 4,2 g, 75 %, weißes Pulver

Schmelzpunkt: 86°C

R_f-Wert: 0,85 (EtOH)IR (KBr, cm⁻¹): 3267, 2971, 2830, 1748, 1638, 1520, 1277, 1038, 754MG: C₂₁H₂₅NO₅ (371,43 g/mol)

Elementaranalyse:

gemessen:

C(%) = 67,90; H(%) = 6,82; N(%) = 3,66

berechnet für C₂₁H₂₅NO₅:

C(%) = 67,91; H(%) = 6,78; N(%) = 3,77

¹H-NMR (250 MHz, CDCl₃):

δ (ppm)	Multiplizität	Integration	Zuordnung
1.21-1.30	t (<i>J</i> = 7.1 Hz)	3H	O-CH ₂ -CH ₃
2.83-2.93	t (<i>J</i> = 6.9 Hz)	2H	Ph-CH ₂ -CH ₂ -NH
3.04-3.14	t (<i>J</i> = 6.6 Hz)	2H	Ph-CH ₂ -CH ₂ -O
3.62-3.73	q (<i>J</i> = 6.9 Hz)	2H	Ph-CH ₂ -CH ₂ -NH
3.78	s	3H	O-CH ₃
4.07-4.20	q (<i>J</i> = 7.1 Hz)	2H	O-CH ₂ -CH ₃
4.27-4.38	t (<i>J</i> = 6.6 Hz)	2H	Ph-CH ₂ -CH ₂ -O
5.59-6.12	brt	1H	NH
6.81-6.90	dd (<i>J</i> = 2.2, 8.7 Hz)	2H	arom., H3', H5'
7.12-7.20	dd (<i>J</i> = 2.2, 8.7 Hz)	2H	arom., H2', H6'
7.20-7.38	mc	4H	arom., H3-H6

2-Methoxy-5,6,8,9-tetrahydro-13bH-dibenzo[a,h]chinolizin (97)

3,2 g (8,6 mmol) 2-[2-([2-(4-Methoxyphenyl)ethyl]amino)carbonyl]phenyl]ethyl-ethylcarbonat (**96**) werden in einem Gemisch aus 50 ml Acetonitril und 10 ml POCl₃ gelöst und bei 95°C unter Rühren 18 h erhitzt. Nach dem Abkühlen wird das Lösungsmittel abgedampft, das verbliebene dunkle Öl in 50 ml einer 2N-HCl-Lösung aufgenommen und mit 5x20 ml Chloroform extrahiert. Die org. Phase wird abgedampft, das verbleibende Öl mit 60 ml einer 20%igen ethanolischen (70%) KOH-Lösung versetzt und bei Raumtemperatur 16 h gerührt. Nach Entfernen des Lösungsmittels im Vakuum auf ca. 20 ml wird mit konz. HCl angesäuert, mit 6x20 ml Chloroform extrahiert und anschließend die org. Phase abgedampft. Der Rückstand wird in 15 ml POCl₃ gelöst und unter Rühren bei 60°C 15 min. erhitzt. Nach dem Abkühlen versetzt man die Lösung mit 50 ml Petrolether (60/40), schüttelt intensiv und dekantiert vom sich absetzenden schwarzen Öl ab. Das Öl wird wie oben beschrieben mit weiteren 5x20 ml Petrolether digeriert. Anschließend wird der schwarze Rückstand in 50 ml Methanol aufgenommen, unter Rühren und Eiskühlung langsam mit 3 g NaBH₄ versetzt und ½ h unter Rückfluss erhitzt. Nach Entfernen des Lösungsmittels im Vakuum erfolgt Aufnahme in 50 ml Wasser, Extraktion der wässrigen Phase mit 3x40 ml Ether und Trocknen der org. Phase über MgSO₄. Filtration und Abdampfen des Lösungsmittels, sowie Umkristallisation aus Ether/Ethanol führt zu einem weißen Feststoff, der im Vakuum getrocknet wird.

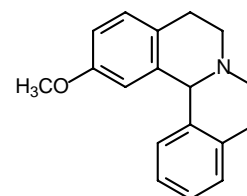
Ausbeute: 0,35 g, 15 %, weißer Feststoff

Schmelzpunkt: 92°C

R_F-Wert: 0,43 (EtOH)

IR (KBr, cm⁻¹): 3424, 1657, 1627, 1518, 1253, 1036

MG: C₁₈H₁₉NO (265,35 g/mol)



Elementaranalyse:

gemessen:

C(%)= 81,42; H(%)= 7,10; N(%)= 5,45

berechnet für C₁₈H₁₉NO:

C(%)= 81,48; H(%)= 7,22; N(%)= 5,28

GC/MS: t_R= 19.35 min.

m/z (% rel. Int.) = 264 [M-H]⁺ (100.0), 250(4.4), 236(13.1), 220(5.8), 206(3.8), 178(5.6), 165(5.5), 134(8.0), 115(6.2), 105(5.8), 91(4.3), 77(4.9), 51(2.0)

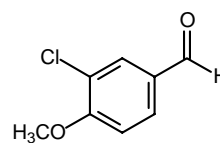
¹H-NMR (250 MHz, CDCl₃):

δ (ppm)	Multiplizität	Integration	Zuordnung
2.72-2.99	mc	4H	Ph-CH ₂
3.05-3.32	mc	4H	Ph-CH ₂ -CH ₂
3.75	s	3H	O-CH ₃
5.07	s	1H	Ph-CH-Ph
6.72-6.80	s, dd, überl.	2H	arom., H1, H3
7.02-7.28	mc	5H	arom.

3-Chloro-4-methoxybenzaldehyd (81)

Zu einer Mischung aus 66,7 g (489,9 mmol) p-Anisaldehyd (**80**) und 1 g Pyridin werden 79,3g (587,5 mmol) Sulfurylchlorid unter Rühren langsam zugetropft. Anschließend wird 2½h auf 60°C erhitzt, abgekühlt und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Das verbleibende gelbliche Öl wird mit Wasser gewaschen und aus Ether/Hexan (4/1) umkristallisiert.

Ausbeute: 54 g, 65 %, weiße Nadeln
 Schmelzpunkt: 56°C, Lit.: 54-56°C [Riggs, 1987]
 R_f -Wert: 0,28 (Toluol/MeOH)
 IR (KBr, cm^{-1}): 3472, 2855, 1702, 1600, 1503, 1277, 1058, 816
 MG: $\text{C}_8\text{H}_7\text{ClO}_2$ (170,59 g/mol)



Elementaranalyse:

gemessen: $\text{C}(\%) = 56,00$; $\text{H}(\%) = 4,18$; $\text{N}(\%) = 0,09$
 berechnet für $\text{C}_8\text{H}_7\text{ClO}_2$: $\text{C}(\%) = 56,33$; $\text{H}(\%) = 4,14$; $\text{N}(\%) = 0,00$

GC/MS: $t_R = 9.17$ min.

m/z (% rel. Int.) = 169 $[\text{M}-\text{H}]^+$ (100.0), 141(7.8), 126(10.1), 119(2.1), 111(7.7), 99(11.9), 91(1.2), 77(10.6), 63(13.4), 51(2.8)

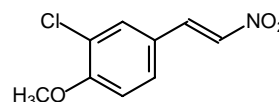
$^1\text{H-NMR}$ (250 MHz, CDCl_3):

δ (ppm)	Multiplizität	Integration	Zuordnung
4.00	s	3H	O-CH ₃
6.99-7.11	d ($J = 10$ Hz)	1H	arom., H5
7.75-7.85	dd ($J = 2.5, 10$ Hz)	1H	arom., H6
7.88-7.95	d ($J = 2.5$ Hz)	1H	arom., H2
9.85	s	1H	O=CH

2-Chloro-1-methoxy-4-(2-nitrovinyl)benzen (82)

47 g (275,5 mmol) 3-Chloro-4-methoxybenzaldehyd (**81**), 40,3 g (660 mmol) Nitromethan und 10 g Ammoniumacetat werden in einem mit 160 ml Eisessig versetzten 500ml-Rundkolben gelöst und unter Rühren bei 100°C 5 h erhitzt. Nach dem Abkühlen wird die Lösung mit ca. 60 ml Wasser versetzt. In der Kälte kommt es langsam zur Kristallisation. Die entstandenen Nadeln werden abfiltriert und im Vakuum getrocknet.

Ausbeute: 33 g, 56 %, gelbe Nadeln
 Schmelzpunkt: 102°C, Lit.: 103°C (Iida, 1975)
 R_f -Wert: 0,86 (CHCl_3 /10%MeOH)
 IR (KBr, cm^{-1}): 3446, 3100, 2933, 1689, 1600, 1509, 1331, 1268
 MG: $\text{C}_9\text{H}_8\text{ClNO}_3$ (213,62 g/mol)



Elementaranalyse:

gemessen: $\text{C}(\%) = 50,98$; $\text{H}(\%) = 3,81$; $\text{N}(\%) = 6,20$
 berechnet für $\text{C}_9\text{H}_8\text{ClNO}_3$: $\text{C}(\%) = 50,60$; $\text{H}(\%) = 3,77$; $\text{N}(\%) = 6,56$

GC/MS: $t_R = 14.88$ min.

m/z (% rel. Int.) = 213 $[\text{M}-\text{H}]^+$ (68.2), 196(3.2), 178(7.5), 166(100.0), 151(28.7), 142(6.5), 132(28.4), 123(17.5), 117(9.9), 102(8.9), 89(55.4), 77(19.6), 63(29.9), 51(9.5)

$^1\text{H-NMR}$ (250 MHz, CDCl_3):

δ (ppm)	Multiplizität	Integration	Zuordnung
3.94-4.02	s	3H	O-CH ₃
6.95-7.04	d ($J = 8.6$ Hz)	1H	arom., H6
7.40-7.47	dd ($J = 2.3, 8.6$ Hz)	1H	arom., H5

δ (ppm)	Multiplizität	Integration	Zuordnung
7.47-7.55	d($J = 13.6$ Hz)	1H	CH=CH-NO ₂
7.57-7.62	d($J = 2.3$ Hz)	1H	arom., H3
7.87-7.96	d($J = 13.6$ Hz)	1H	CH=CH-NO ₂

2-(3-Chloro-4-methoxyphenyl)ethylamin (84)

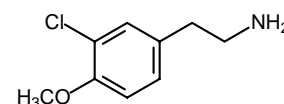
A) 33 g (155 mmol) 2-Chloro-1-methoxy-4-(2-nitrovinyl)benzen (**82**) werden in 150 ml trockenem THF gelöst und unter Rühren langsam zu einer eisgekühlten Suspension aus 24,8 g (657 mmol) LiAlH₄ in 150 ml trockenem THF zugetropft, so dass 15°C nicht überschritten werden (ca. 3h). Bei Raumtemperatur wird 18 h gerührt, anschließend unter Eiskühlung ca. 300 ml 30%ige NaOH-Lösung vorsichtig zugegeben, der entstandene Niederschlag über Kieselgur abfiltriert und mit 500 ml THF gewaschen. Die THF-Phase wird abgetrennt und die wässrige Phase mit 3x50 ml Chloroform extrahiert. Die org. Phasen werden vereint, über MgSO₄ getrocknet, abfiltriert und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Das verbleibende dunkelgelbe Öl wird destilliert.

Ausbeute: 12,3 g, 43 %, hellgelbes Öl

Siedepunkt: 130°C/0,37 mbar, Lit.: 140°C/0,8 mbar [Charifson, 1988]

R_F-Wert: 0,08 (CHCl₃/10%MeOH)

MG: C₉H₁₂ClNO (185,65 g/mol)



Hochauflösende Masse:

gemessen: 186,0685

berechnet für C₉H₁₃ClNO: 186,0686

GC/MS: t_R = 10.67 min.

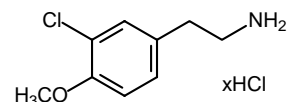
m/z (% rel. Int.) = 185 [M]⁺• (5.1), 168(2.3), 156(100.0), 141(8.7), 134(2.2), 121(8.6), 112(5.2), 105(7.5), 89(7.1), 77(30.6), 63(6.0), 51(11.5)

¹H-NMR (250 MHz, CDCl₃):

δ (ppm)	Multiplizität	Integration	Zuordnung
1.25-2.60	s	2H	NH ₂
2.62-2.72	t ($J = 6.7$ Hz)	2H	CH ₂ -CH ₂ -NH ₂
2.88-2.98	td ($J = 6.7$ Hz)	2H	CH ₂ -CH ₂ -NH ₂
3.89	s	3H	O-CH ₃
6.82-6.91	d ($J = 8.3$ Hz)	1H	arom., H5
7.02-7.09	dd ($J = 2.2, 8.3$ Hz)	1H	arom., H6
7.19-7.23	d ($J = 2.2$ Hz)	1H	arom., H2

B) 10 g (66,1 mmol) p-Methoxyphenylethylamin (**83**) werden nach Yu *et al* [Yu, 2001] in 130 ml Eisessig gelöst und unter Rühren und Kühlung tropfenweise mit 13,4 g (99,2 mmol) Sulfurylchlorid versetzt, wobei die Temperatur nicht über 25°C steigen soll. Es bildet sich eine Suspension, die sich aber im Laufe der Reaktion wieder auflöst. Nach 2 h wird mit ca. 200 ml Ether versetzt und 1h gerührt. Der entstandene weiße Niederschlag wird abfiltriert und aus MeOH/Ether umkristallisiert.

Ausbeute: 5,8 g, 40 %, weißer Feststoff
 Schmelzpunkt: 249°C
 R_f -Wert: 0,08 (EtOH)
 IR (KBr, cm^{-1}): 2983, 1603, 1507, 1293, 1068, 809
 MG: $\text{C}_9\text{H}_{13}\text{Cl}_2\text{NO}$ (222,11 g/mol)

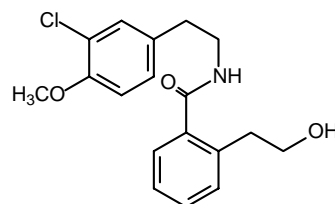


Die analytischen Daten stimmen mit den unter A) angegebenen überein.

2-(2-Hydroxyethyl)-N-[2-(3-chloro-4-methoxyphenyl)ethyl]benzamid (**85**)

12 g (64,6 mmol) 2-(3-Chloro-4-methoxyphenyl)ethylamin (**84**) und 10,5 g (70,8 mmol) Isochromanon (**54**) werden unter Rühren bei 120°C 5 h erhitzt. Nach dem Abkühlen wird das ölige Gemisch mit wenig Chloroform versetzt und das Amin mit Chloroform über Kieselgel 60 säulenchromatographisch abgetrennt. Durch Wechsel des Elutionsmittels auf $\text{CHCl}_3/\text{EtOH}$ (95/5) wird das Produkt **85** isoliert. Nach Entfernen des Lösungsmittels im Vakuum erfolgt Umkristallisation des verbleibenden braunen Öls aus Ethylacetat. Nach wenigen Tagen bilden sich weiße Kristalle.

Ausbeute: 7,5 g, 35 %, weiße Kristalle
 Schmelzpunkt: 104-112°C
 R_f -Wert: 0,71 (MeOH)
 IR (KBr, cm^{-1}): 3498, 3245-3080, 2868, 1624, 1503, 1258, 1071
 MG: $\text{C}_{18}\text{H}_{20}\text{ClNO}_3$ (333,81 g/mol)



Elementaranalyse:

gemessen: $\text{C}(\%) = 64,90$; $\text{H}(\%) = 6,06$; $\text{N}(\%) = 4,17$
 berechnet für $\text{C}_{18}\text{H}_{20}\text{ClNO}_3$: $\text{C}(\%) = 64,77$; $\text{H}(\%) = 6,04$; $\text{N}(\%) = 4,20$

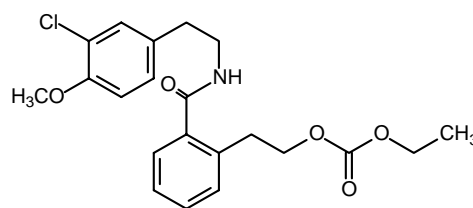
^1H -NMR (250 MHz, CDCl_3):

δ (ppm)	Multiplizität	Integration	Zuordnung
2.80-2.95	mc ($J = 6.8$ Hz)	4H	2x Ph- CH_2
3.60-3.74	mc ($J = 6.8$ Hz)	2H	NH- CH_2
3.81-3.92	mc ($J = 6.8$ Hz)	2H	HO- CH_2
3.88	s	3H	O- CH_3
6.50-6.66	t	1H	NH
6.83-6.93	dd ($J = 8.4$ Hz)	1H	arom., H5'
7.06-7.15	dd ($J = 2.3, 8.4$ Hz)	1H	arom., H6'
7.17-7.45	mc	5H	arom.

2-[2-([2-(3-Chloro-4-methoxyphenyl)ethyl]amino)carbonyl]phenyl]ethyl-ethyl-carbonat (**86**)

5,2 g (15,6 mmol) 2-(2-Hydroxyethyl)-N-[2-(3-chloro-4-methoxyphenyl)ethyl]benzamid (**85**) werden in einer Mischung aus Pyridin/ CHCl_3 (70ml/35ml) gelöst und unter Rühren tropfenweise mit 5 g (47,2 mmol) Chlorameisensäureethylester, gelöst in 35 ml CHCl_3 , innerhalb $\frac{1}{2}$ h versetzt. Es wird weitere 30 min. bei RT gerührt, das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und der verbliebene Rückstand in 100 ml CHCl_3 aufgenommen. Die Lösung wird mit je 2x20 ml 2N-HCl-Lösung, 2N-NaOH-Lösung und Wasser gewaschen, die org. Phase über MgSO_4 getrocknet, abfiltriert und abgedampft. Das verbleibende Öl wird mit wenig Ether versetzt und gekühlt. Nach Ankratzen der Lösung kristallisiert ein beiger Feststoff, der abfiltriert, mit Ether gewaschen und im Vakuum getrocknet wird.

Ausbeute: 5,2 g, 82 %, hellbeiges Pulver
 Schmelzpunkt: 77°C
 R_f -Wert: 0,71 (MeOH)
 IR (KBr, cm^{-1}): 3472, 1741, 1650, 1264
 MG: $\text{C}_{21}\text{H}_{24}\text{ClNO}_5$ (405,87 g/mol)



Elementaranalyse:

gemessen: $\text{C}(\%) = 62,99$; $\text{H}(\%) = 5,99$; $\text{N}(\%) = 3,30$
 berechnet für $\text{C}_{21}\text{H}_{24}\text{ClNO}_5$: $\text{C}(\%) = 62,14$; $\text{H}(\%) = 5,96$; $\text{N}(\%) = 3,45$

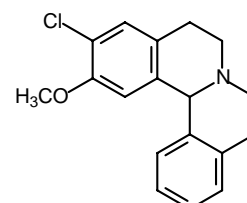
^1H -NMR (250 MHz, CDCl_3):

δ (ppm)	Multiplizität	Integration	Zuordnung
1.20-1.34	t ($J = 7.1$ Hz)	3H	O-CH ₂ -CH ₃
2.83-2.96	t ($J = 6.9$ Hz)	2H	Ph-CH ₂ -CH ₂ -NH
3.05-3.17	t ($J = 6.6$ Hz)	2H	Ph-CH ₂ -CH ₂ -O
3.63-3.77	q ($J = 6.9$ Hz)	2H	Ph-CH ₂ -CH ₂ -NH
3.92	s	3H	O-CH ₃
4.09-4.22	q ($J = 7.1$ Hz)	2H	O-CH ₂ -CH ₃
4.32-4.42	t ($J = 6.6$ Hz)	2H	Ph-CH ₂ -CH ₂ -O
6.01-6.20	t	1H	NH
6.88-6.95	d ($J = 8.4$ Hz)	1H	arom.
7.10-7.19	dd ($J = 2.2, 8.4$ Hz)	1H	arom.
7.22-7.43	mc	5H	arom.

3-Chloro-2-methoxy-5,6,8,9-tetrahydro-13bH-dibenzo[a,h]chinolizin (87)

5 g (12,25 mmol) 2-[2-({[2-(3-Chloro-4-methoxyphenyl)ethyl]amino}carbonyl)phenyl]ethyl-ethyl-carbonat (**86**) werden in einem Gemisch aus 120 ml Acetonitril und 9 ml POCl_3 gelöst und unter Rühren bei 95°C 15 h erhitzt. Nach dem Abkühlen wird das Lösungsmittel abgedampft, das verbleibende schwarze Öl in 100 ml einer 2N-HCl-Lösung aufgenommen und mit 6x20 ml Chloroform extrahiert. Die org. Phase wird abgedampft, der Rückstand mit 100 ml einer 20%igen ethanolischen (70%) KOH-Lösung versetzt und bei Raumtemperatur 16 h gerührt. Nach Entfernen des Lösungsmittels im Vakuum auf ca. 20 ml wird mit konz. HCl angesäuert, mit 8x20 ml Chloroform extrahiert und anschließend die org. Phase abgedampft. Das verbleibende dunkle Öl wird in 15 ml POCl_3 gelöst und unter Rühren bei 60°C 15 min. erhitzt. Nach dem Abkühlen versetzt man die Lösung mit 50 ml Petrolether (60/40), schüttelt intensiv und dekantiert vom sich absetzenden schwarzen Öl ab. Das Öl wird wie oben beschrieben mit weiteren 4x20 ml Petrolether digeriert. Anschließend wird der schwarze Rückstand in 60 ml Methanol aufgenommen, unter Rühren und Eiskühlung langsam mit 5 g NaBH_4 versetzt und $\frac{1}{2}$ h unter Rückfluss erhitzt. Nach Abdampfen der org. Phase erfolgt Aufnahme in 100 ml Wasser, Extraktion der wässrigen Phase mit 3x40 ml Ether und Trocknen der org. Phase über MgSO_4 . Filtration und Entfernen des Lösungsmittels im Vakuum, sowie Umkristallisation aus Ether/Ethanol führt zu einem weißen Feststoff, der im Vakuum getrocknet wird.

Ausbeute: 0,48 g, 13 %, weißer Feststoff
 Schmelzpunkt: 129°C
 R_f -Wert: 0,87 ($\text{CHCl}_3/10\%\text{MeOH}$)
 IR (KBr, cm^{-1}): 2928, 2845, 1596, 1493, 1315, 1253, 1061, 753
 MG: $\text{C}_{18}\text{H}_{18}\text{ClNO}$ (299,79 g/mol)



Elementaranalyse:

gemessen: C(%)= 70,40; H(%)= 6,38; N(%)= 4,38
 berechnet für $C_{18}H_{18}ClNO \times \frac{2}{5} H_2O$: C(%)= 70,42; H(%)= 6,17; N(%)= 4,54

MS (EI):

m/z (% rel. Int.) = 298 [M-H]⁺ (100.0), 284(3.2), 270(6.4), 264(2.4), 168(2.4), 105(3.2), 57(1.6)

¹H-NMR (250 MHz, CDCl₃):

δ (ppm)	Multiplizität	Integration	Zuordnung
2.70-2.98	mc	4H	Ph-CH ₂
3.02-3.29	mc	4H	Ph-CH ₂ -CH ₂
3.79	s	3H	O-CH ₃
5.04	s	1H	Ph-CH-Ph
6.78	s	1H	arom., H1
7.10-7.23	mc	5H	arom.

3-Chloro-2-methoxy-7-methyl-5,6,8,9-tetrahydro-13bH-dibenzo[a,h]chinoliziniumiodid (88)

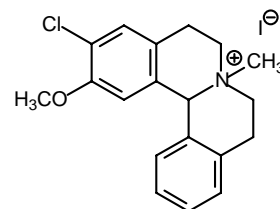
0,48 g (1,6 mmol) 3-Chloro-2-methoxy-5,6,8,9-tetrahydro-13bH-dibenzo[a,h]chinolizin (**87**) werden in 30 ml trockenem Aceton gelöst, mit 0,9 g (6,4 mmol) Methyljodid versetzt und unter Rühren und Stickstoffatmosphäre bei 65°C 18 h erhitzt. Nach dem Abkühlen wird der entstandene weiße Feststoff abfiltriert, mit wenig Aceton gewaschen und im Vakuum getrocknet.

Ausbeute: 0,64 g, 91 %, weißer Feststoff

Schmelzpunkt: 264°C

IR (KBr, cm⁻¹): 3436, 3010, 1603, 1507, 1445, 1054, 753

MG: C₁₉H₂₁ClINO (441,73 g/mol)



Elementaranalyse:

gemessen: C(%)= 51,99; H(%)= 4,86; N(%)= 3,21
 berechnet für C₁₉H₂₁ClINO: C(%)= 51,66; H(%)= 4,79; N(%)= 3,17

¹H-NMR (250 MHz, [D₆]-DMSO):

δ (ppm)	Multiplizität	Integration	Zuordnung
3.09-3.32	mc	4H	Ph-CH ₂
3.19	s	3H	N-CH ₃
3.71-3.98	mc	4H	Ph-CH ₂ -CH ₂
3.82	s	3H	O-CH ₃
5.90	s	1H	Ph-CH-Ph
6.94-7.00	s	1H	arom., H1
7.17-7.26	d	1H	arom., H 10
7.30-7.45	mc	3H	arom., H11-13
7.47-7.52	s	1H	arom., H4

2-Methoxy-7-methyl-5,6,7,8,9,14-hexahydrodibenz[*d,g*]azecin-Hydrochlorid (90)

In einen mit 0,1 g (0,23 mmol) 3-Chloro-2-methoxy-7-methyl-5,6,8,9-tetrahydro-13*bH*-dibenzo[*a,h*]chinoliziniumiodid (**88**) versetzten 100ml-Dreihalskolben, der mit einem Gaseinleitungsrohr, einem Luftballon zur Druckregulation und einem Stopfen verschlossen ist, wird unter Kühlung mit flüssigem Stickstoff ca. 50 ml Ammoniak einkondensiert. Anschließend wird das Kühlbad entfernt und der Ansatz bei ca. -40°C unter Stickstoffatmosphäre zügig mit kleinen Natriumstücken (ca. 4x4x4mm) versetzt, bis eine tiefblaue Farbe bestehen bleibt. Nach Beenden der Zugabe wird die Reaktion nach 13 min. durch Hinzufügen gesättigter Ammoniumchloridlösung, bis zum Verschwinden der Färbung, abgebrochen. Nach Abdampfen des Ammoniaks bei Raumtemperatur unter Stickstoffatmosphäre wird der Rückstand in 40 ml Wasser aufgenommen, mit 3x30 ml Ether ausgeschüttelt, über Magnesiumsulfat getrocknet, abfiltriert und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Das verbleibende Öl wird über Kieselgel 60 mit EtOH säulenchromatographisch gereinigt, anschließend mit etherischer Salzsäurelösung versetzt und der Niederschlag abfiltriert. Umkristallisation aus EtOH/Ether und Trocknen im Vakuum führt zu einem weißen Feststoff.

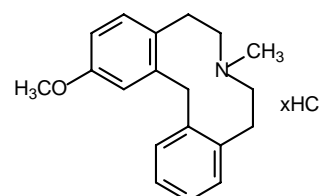
Ausbeute: 16 mg, 22 %, weißer Feststoff

Schmelzpunkt: 249°C

R_F-Wert: 0,33 (EtOH) (Base)

IR (KBr, cm⁻¹): 3460, 2920, 2855, 1660-1630, 1470

MG: C₁₉H₂₄ClNO (317,85 g/mol)



Elementaranalyse:

gemessen:

C(%)= 71,65; H(%)= 7,50; N(%)= 4,62

berechnet für C₁₉H₂₄ClNO:

C(%)= 71,80; H(%)= 7,61; N(%)= 4,41

GC/MS: t_R= 22.96 min.

m/z (% rel. Int.) = 281 [M]⁺ (51.7), 266(17.6), 253(3.6), 238(9.4), 223 (84.2), 209(80.5), 193(23.1), 176(59.3), 165(53.3), 146(79.7), 133(15.6), 115(38.2), 91(24.2), 58(100.0)

¹H-NMR (250 MHz, CDCl₃):

δ (ppm)	Multiplizität	Integration	Zuordnung
2.18	s	3H	N-CH ₃
2.47-2.66	mc	8H	Ph-CH ₂ -CH ₂
3.67	s	3H	O-CH ₃
4.35	s	2H	Ph-CH ₂ -Ph
6.55-6.65	dd (<i>J</i> = 2.9, 8.4 Hz)	1H	arom., H3
6.72-6.78	d (<i>J</i> = 2.9 Hz)	1H	arom., H1
6.84-6.92	d (<i>J</i> = 8.4 Hz)	1H	arom., H4
6.93-7.10	mc	3H	arom., H10-12
7.14-7.24	mc	1H	arom., H13

1,3-Dichloro-2-methoxy-7-methyl-5,6,7,8,9,14-hexahydrodibenz[*d,g*]azecin-Hydrochlorid (98)

30 mg (0,106 mmol) 2-Methoxy-7-methyl-5,6,7,8,9,14-hexahydrodibenz[*d,g*]azecin (**90**) werden in 1 ml Eisessig gelöst und unter Rühren tropfenweise mit 21,5 mg (0,16 mmol) Sulfurylchlorid versetzt. Man rührt 2 ½ h bei Raumtemperatur, alkalisiert mit 2N NaOH-Lösung und extrahiert mit 3x20 ml Ether. Nach Entfernen des Lösungsmittels im Vakuum wird das verbleibende Öl mittels präparativer DC (Kieselgel 60) mit EtOH als Elutionsmittel

aufgetrennt. Nach Abtragen der Produktbande mit dem entsprechenden R_f -Wert auf der DC wird die Kieselgelschicht mit CH_2Cl_2 extrahiert, abfiltriert und die org. Phase im Vakuum entfernt. Man löst den verbleibenden Rückstand in wenig Ether und versetzt mit etherischer HCl-Lösung, filtriert ab und kristallisiert den weißen Niederschlag aus Ether/Ethanol um.

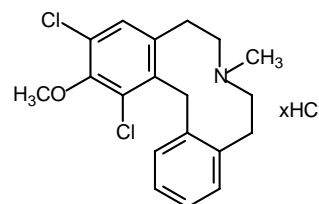
Ausbeute: 7,3 mg, 20 %, weißer Feststoff

Schmelzpunkt: $> 300^\circ\text{C}$

R_f -Wert: 0,32 (EtOH) (Base)

IR (KBr, cm^{-1}): 3434, 1645, 1471, 1277

MG: $\text{C}_{19}\text{H}_{22}\text{Cl}_3\text{NO}$ (386,74 g/mol)



Elementaranalyse:

gemessen:

C(%)= 65,35; H(%)= 5,91; N(%)= 4,36

berechnet für $\text{C}_{19}\text{H}_{22}\text{Cl}_3\text{NO}$:

C(%)= 65,15; H(%)= 6,04; N(%)= 4,00

GC/MS: $t_R = 25.95$ min.

m/z (% rel. Int.) = 349 $[\text{M}]^{+*}$ (6.9), 334(3.9), 314(4.2), 290(6.2), 271(8.9), 256(12.5), 244(16.5), 222(10.3), 199(11.9), 189(14.4), 178(16.4), 160(16.9), 146(55.3), 115(21.6), 105(9.0), 91(12.6), 71(87.2), 58(100.0)

$^1\text{H-NMR}$ (250 MHz, CDCl_3):

δ (ppm)	Multiplizität	Integration	Zuordnung
2.28	s	3H	N-CH ₃
2.40-2.48	mc	2H	Ph-CH ₂ -CH ₂
2.55-2.75	mc	6H	Ph-CH ₂ -CH ₂
3.81	s	3H	O-CH ₃
4.69	s	2H	Ph-CH ₂ -Ph
6.90-7.13	m, überl.	5H	arom.

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3):

δ (ppm)	Zuordnung	δ (ppm)	Zuordnung
33.53	Ph-CH ₂	130.43	arom.
33.75	Ph-CH ₂	130.50	arom.
35.46	Ph-CH ₂ -Ph	130.59	arom.
45.75	N-CH ₃	130.99	arom., quart.
59.00	Ph-CH ₂ -CH ₂	138.70	arom., quart.
59.69	Ph-CH ₂ -CH ₂	139.32	arom., quart.
60.50	O-CH ₃	139.47	arom., quart.
126.15	arom., quart.	140.78	arom., quart.
126.44	arom.	150.71	arom., C2
126.56	arom.		

3-Chloro-2-methoxy-7-methyl-6,7,8,9-tetrahydrodibenz[d,g]azecin-14(5H)-on (104)

0,13 g (0,29 mmol) 3-Chloro-2-methoxy-7-methyl-5,6,8,9-tetrahydro-13bH-dibenzo[a,h]-chinoliziniumiodid (**88**) werden in 3 ml DMSO gelöst und unter Rühren bei Raumtemperatur über 7 h mit kleinen Mengen Natriumhydrid (insgesamt 20 mg) versetzt. Der Ansatz wird in 30 ml Wasser aufgenommen, mit 3x30 ml Ether extrahiert und die org. Phase im Vakuum entfernt. Der ölige Rückstand wird aus wenig Ether umkristallisiert. Es entstehen weiße Kristalle, die im Vakuum getrocknet werden.

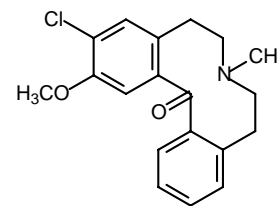
Ausbeute: 35 mg, 36 %, weiße Kristalle

Schmelzpunkt: 170°C

R_f-Wert: 0,16 (EtOH)

IR (KBr, cm⁻¹): 3436, 2928, 2845, 1658, 1596, 1486, 1274

MG: C₁₉H₂₀ClNO₂ (329,82 g/mol)



Elementaranalyse:

gemessen: C(%)= 66,18; H(%)= 5,97; N(%)= 3,87

berechnet für C₁₉H₂₀ClNO₂ x ⁴/₅ H₂O: C(%)= 66,29; H(%)= 6,32; N(%)= 4,07

GC/MS: t_R= 21.96 min.

m/z (% rel. Int.) = 329 [M]⁺ (26.4), 314(3.4), 300(6.9), 285(20.0), 271(6.5), 255(9.1), 243(14.6), 223(19.3), 208(25.7), 197(6.2), 189(6.4), 178(16.6), 165(23.1), 146(38.0), 132(6.6), 115(8.9), 103(10.9), 89(14.9), 77(14.6), 71(100.0), 58(31.7)

¹H-NMR (HCl) (250 MHz, MeOD):

δ (ppm)	Multiplizität	Integration	Zuordnung
3.05	s	3H	N-CH ₃
3.12-3.25	mc	2H	Ph-CH ₂
3.27-3.40	mc	2H	Ph-CH ₂
3.86	s	3H	O-CH ₃
3.86-4.10	mc	4H	Ph-CH ₂ -CH ₂
7.11-7.22	s	1H	arom., H1
7.35-7.60	m	5H	arom.

¹³C-NMR + DEPT (HCl) (MeOD):

δ (ppm)	Zuordnung	δ (ppm)	Zuordnung
23.86	Ph-CH ₂	128.55	arom., C12
24.71	Ph-CH ₂	129.65	arom., C11
45.55	N-CH ₃	130.63	arom., C13
54.58	Ph-CH ₂ -CH ₂	131.28	arom., C10
54.75	Ph-CH ₂ -CH ₂	131.75	arom., C4
56.71	O-CH ₃	131.78	arom., quart.
98.66	Ph-C-Ph	134.52	arom., quart.
113.34	arom., C1	134.54	arom., quart.
124.73	arom., quart.	155.55	arom., C2
125.73	arom., C3		

3-Chloro-2-hydroxy-7-methyl-5,6,8,9-tetrahydro-13bH-dibenzo[a,h]chinoliziniumbromid (89)

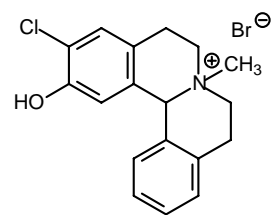
0,2 g (0,45 mmol) 3-Chloro-2-methoxy-7-methyl-5,6,8,9-tetrahydro-13bH-dibenzo[a,h]-chinoliziniumiodid (**88**) werden in 20 ml 47%iger HBr-Lösung gelöst und unter Rühren 4 h unter Rückfluss erhitzt. Nach dem Abkühlen wird das Lösungsmittel abgedampft und der verbleibende, weiße Rückstand in Aceton suspendiert, abfiltriert, mit Aceton gewaschen und im Vakuum getrocknet.

Ausbeute: 0,14 g, 81 %, weißer Feststoff

Schmelzpunkt: 264°C

IR (KBr, cm^{-1}): 3434, 3022, 1611, 1516, 1419, 1354, 1219

MG: $\text{C}_{18}\text{H}_{19}\text{BrClNO}$ (380,71 g/mol)



Hochauflösende Masse:

gemessen: 300,1159

berechnet für $\text{C}_{18}\text{H}_{19}\text{ClNO}$: 300,1155

Elementaranalyse:

gemessen: C(%)= 54,35; H(%)= 5,27; N(%)= 3,45

berechnet für $\text{C}_{18}\text{H}_{19}\text{BrClNO} \times 1 \text{ H}_2\text{O}$: C(%)= 54,22; H(%)= 5,31; N(%)= 3,51

$^1\text{H-NMR}$ (250 MHz, $[\text{D}_6]$ -DMSO):

δ (ppm)	Multiplizität	Integration	Zuordnung
3.05-3.30	mc	4H	Ph-CH ₂
3.17	s	3H	N-CH ₃
3.70-3.90	mc	4H	Ph-CH ₂ -CH ₂
5.92	s	1H	Ph-CH-Ph
6.74	s	1H	arom., H1
7.17-7.27	d	1H	arom., H10
7.33-7.50	mc	4H	arom., H4, H11-13
10.37	s	1H	OH

2-Hydroxy-7-methyl-5,6,7,8,9,14-hexahydrodibenz[d,g]azecin-Hydrochlorid (91)

In einen mit 0,1 g (0,26 mmol) 3-Chloro-2-hydroxy-7-methyl-5,6,8,9-tetrahydro-13bH-dibenzo[a,h]chinoliziniumbromid (**89**) versetzten 100ml-Dreihalskolben, der mit einem Gaseinleitungsrohr, einem Luftballon zur Druckregulation und einem Stopfen verschlossen ist, wird unter Kühlung mit flüssigem Stickstoff ca. 50 ml Ammoniak einkondensiert. Anschließend wird das Kühlbad entfernt und der Ansatz bei ca. -40°C unter Stickstoffatmosphäre zügig mit kleinen Natriumstücken (ca. 4x4x4mm) versetzt, bis eine tiefblaue Farbe bestehen bleibt. Nach Beenden der Zugabe wird die Reaktion nach 23 min. durch Hinzufügen gesättigter Ammoniumchloridlösung, bis zum Verschwinden der Färbung, abgebrochen. Nach Abdampfen des Ammoniaks bei Raumtemperatur unter Stickstoffatmosphäre wird der Rückstand in 40 ml Wasser aufgenommen, mit 5%iger HCl-Lösung auf pH 9 gebracht, mit 7x30 ml Ether ausgeschüttelt, über Magnesiumsulfat getrocknet, abfiltriert und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Das verbleibende Öl wird mit etherischer Salzsäurelösung versetzt und der Niederschlag abfiltriert. Umkristallisation aus EtOH/Ether führt zu einem weißen Feststoff, der im Vakuum getrocknet wird.

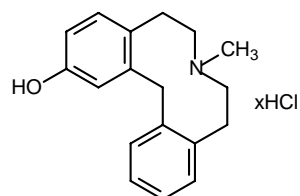
Ausbeute: 43 mg, 54 %, weißer Feststoff

Schmelzpunkt: 265°C

R_f -Wert: 0,12 (EtOH) (Base)

IR (KBr, cm^{-1}): 3134, 2942, 2626, 1610, 1445, 1233, 760

MG: $\text{C}_{18}\text{H}_{22}\text{ClNO}$ (303,83 g/mol)



Elementaranalyse:

gemessen: C(%)= 70,31; H(%)= 7,44; N(%)= 4,33

berechnet für $\text{C}_{18}\text{H}_{22}\text{ClNO} \times \frac{1}{5} \text{ H}_2\text{O}$: C(%)= 70,32; H(%)= 7,34; N(%)= 4,56

GC/MS: t_R = 19.21 min.

m/z (% rel. Int.) = 267 [M]⁺ (33.4), 252(11.3), 238(2.9), 221(8.3), 209(72.0), 195(79.7), 178(21.3), 162(47.4), 146(59.5), 133(15.8), 115(36.5), 91(26.0), 78(8.9), 71(43.7), 58(100.0)

¹H-NMR (250 MHz, [D₆]-DMSO):

δ (ppm)	Multiplizität	Integration	Zuordnung
2.71-2.83	d	3H	N-CH ₃
3.00-3.35	m	8H	Ph-CH ₂ -CH ₂
3.93-4.14	d (J = 22 Hz)	2H	Ph-CH ₂ -Ph
6.56-6.67	dd	1H	arom., H3
6.75-6.83	d	1H	arom., H1
6.93-7.04	d	1H	arom., H4
7.13-7.30	mc	3H	arom., H10-12
7.38-7.49	dd	1H	arom., H13
9.20-9.50	s	1H	OH
10.60-10.90	s	1H	N-H ⁺

¹³C-NMR ([D₆]-DMSO):

δ (ppm)	Zuordnung	δ (ppm)	Zuordnung
26.30	2x Ph-CH ₂	130.36	arom., C13
35.38	Ph-CH ₂ -Ph	130.76	arom., C4
43.24	N-CH ₃	130.80	arom., C4a
55.32	2x Ph-CH ₂ -CH ₂	131.24	arom. C10
114.14	arom., C3	136.49	arom., C9a
116.93	arom., C1	139.34	arom., C13a
126.80	arom., C12	139.92	arom., C14a
127.08	arom., C11	156.07	arom., C2

1-Chloro-2-hydroxy-7-methyl-5,6,7,8,9,14-hexahydrodibenz[*d,g*]azecin-Hydrochlorid (99)

0,22 g (0,72 mmol) 2-Hydroxy-7-methyl-5,6,7,8,9,14-hexahydrodibenz[*d,g*]azecin-Hydrochlorid (**91**) werden in 9 ml Eisessig gelöst, unter Rühren und Kühlung (ca. 15°C) tropfenweise über 2 Stunden mit einer Lösung aus 0,1 g (0,74 mmol) Sulfurylchlorid in 1 ml Eisessig versetzt und bei Raumtemperatur noch ½ h weiter gerührt. Anschließend stellt man den pH-Wert mit 10%iger NaOH-Lösung auf 9 ein und extrahiert mit 4x30 ml Ether. Nach Trocknen der org. Phase mit MgSO₄ und Entfernen des Lösungsmittels im Vakuum wird das verbleibende Öl in Ether gelöst und mit etherischer HCl-Lösung versetzt. Durch Umkristallisation aus Aceton/Ether konnte nach einer Woche ein weißer Feststoff isoliert werden.

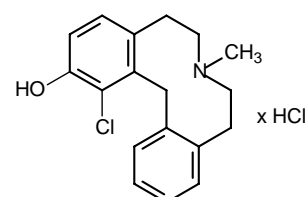
Ausbeute: 20 mg, 8 %, weißer Feststoff

Schmelzpunkt: 263°C

R_F-Wert: 0,22 (EtOH) (Base)

IR (KBr, cm⁻¹): 3460, 3148, 2968, 2608, 1494, 1295, 831, 777

MG: C₁₈H₂₁Cl₂NO (338,28 g/mol)



Elementaranalyse:

gemessen:

C(%) = 63,61; H(%) = 6,25; N(%) = 3,97

berechnet für C₁₈H₂₁Cl₂NO:

C(%) = 63,91; H(%) = 6,26; N(%) = 4,14

GC/MS: t_R = 19.24 min.

m/z (% rel. Int.) = 301 [M]⁺• (44.6), 286(14.2), 266(18.8), 243(32.0), 229(38.0), 223(47.6), 208(49.9), 194(46.8), 178(33.1), 165(53.0), 146(87.6), 131(15.2), 115(31.2), 103(10.4), 91(19.4), 71(75.5), 58(100.0)

¹H-NMR (250 MHz, MEOD):

δ (ppm)	Multiplizität	Integration	Zuordnung
2.92	s	3H	N-CH ₃
3.01-3.27	t	4H	Ph-CH ₂
3.38-3.75	m, überl.	4H	Ph-CH ₂ -CH ₂
4.43	s	2H	Ph-CH ₂ -Ph
6.81-6.87	d (J = 8.4 Hz)	1H	arom., H3
6.98-7.05	d (J = 8.4 Hz)	1H	arom., H4
7.16-7.25	mc	3H	arom., H10-12
7.44-7.52	mc	1H	arom., H13

¹³C-NMR (MeOD):

δ (ppm)	Zuordnung
27.77	Ph-CH ₂
28.63	Ph-CH ₂
34.40	Ph-CH ₂ -Ph
44.74	N-CH ₃
56.18	Ph-CH ₂ -CH ₂
57.08	Ph-CH ₂ -CH ₂
116.06	arom., C3
123.35	arom., C1
128.42	arom.

δ (ppm)	Zuordnung
128.55	arom.
129.72	arom.
130.59	arom.
131.63	arom.
132.79	arom.
137.47	arom.
139.13	arom.
139.34	arom.
154.31	arom., C2

3-Chloro-2-hydroxy-7-methyl-5,6,7,8,9,14-hexahydrodibenz[*d,g*]azecin-Hydrochlorid (100)

Die Synthese erfolgte unter gleichen Bedingungen wie bei 1-Chloro-2-hydroxy-7-methyl-5,6,7,8,9,14-hexahydrodibenz[*d,g*]azecinhydrochlorid (**99**) beschrieben. Hier wurde der Rückstand nicht umkristallisiert, sondern als Base säulenchromatographisch mit einem Chromatotron®, einer rotierenden Kieselgelscheibe, und Ethanol als Elutionsmittel getrennt. Die Fraktion mit dem R_F -Wert von 0,37 wurde nach Abdampfen des Lösungsmittels in wenig Ether aufgenommen und mit etherischer HCl-Lösung als Hydrochlorid gefällt. Anschließende Umkristallisation aus Ethanol/Ether führte zu einem weißen Feststoff.

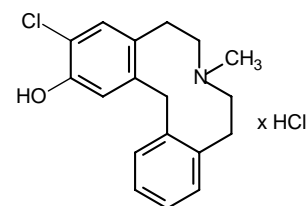
Ausbeute: 9 mg, 3,4 %, weißer Feststoff

Schmelzpunkt: 236°C

R_F -Wert: 0,37 (EtOH) (Base)

IR (KBr, cm⁻¹): 3434, 2958, 2662, 1632, 1471, 1412, 1283

MG: C₁₈H₂₁Cl₂NO (338,28 g/mol)



Elementaranalyse:

gemessen:

berechnet für C₁₈H₂₁Cl₂NO:

C(%) = 63,72; H(%) = 6,20; N(%) = 4,05

C(%) = 63,91; H(%) = 6,26; N(%) = 4,14

GC/MS: t_R = 20.04 min.

m/z (% rel. Int.) = 301 [M]⁺ (37.8), 286(12.4), 266(3.6), 243(45.7), 229(46.6), 223(13.6), 208(59.3), 196(53.5), 178(26.4), 165(40.8), 146(80.6), 131(13.7), 115(31.8), 103(10.5), 91(19.8), 71(55.3), 58(100.0)

¹H-NMR (250 MHz, MEOD):

δ (ppm)	Multiplizität	Integration	Zuordnung
2.88	s	3H	N-CH ₃
3.00-3.25	m, überl.	2H	Ph-CH ₂
3.25-3.42	m, überl.	2H	Ph-CH ₂
3.46-3.63	m, überl.	4H	Ph-CH ₂ -CH ₂
4.04-4.14	d	2H	Ph-CH ₂ -Ph
7.02	s	1H	arom., H1
7.20	s	1H	arom., H4
7.21-7.31	mc	3H	arom., H10-12
7.44-7.52	mc	1H	arom., H13

N-[2-(3-Chloro-4-methoxyphenyl)ethyl]benzamid (148)

10 g (53,86 mmol) 2-(3-Chloro-4-methoxyphenyl)ethylamin (**84**) werden in einem Gemisch aus 70 ml CH₂Cl₂ und 70 ml 10%iger NaOH-Lösung gelöst und unter Rühren bei Raumtemperatur tropfenweise mit 7 g (50 mmol) Benzoylchlorid versetzt. Nach 15 min. wird der sich gebildete Feststoff abfiltriert, der Ansatz mit 50 ml Wasser versetzt und die Phasen getrennt. Die org. Phase wird mit je 50 ml Wasser, 5%iger HCl-Lösung und nochmals Wasser gewaschen und im Vakuum entfernt. Es verbleibt ein Feststoff, der mit dem anderen Feststoff vereinigt und aus Aceton umkristallisiert wird.

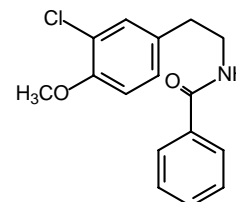
Ausbeute: 14 g, 96 %, weißer Feststoff

Schmelzpunkt: 153°C, Lit.: 137-140°C [Charifson, 1988]

R_f-Wert: 0,79 (EtOH)

IR (KBr, cm⁻¹): 3326, 2942, 1637, 1548, 1507, 1253, 695

MG: C₁₆H₁₆ClNO₂ (289,76 g/mol)



Hochauflösende Masse:

gemessen: 312,0764

berechnet für C₁₆H₁₆NaClNO₂: 312,0767

¹H-NMR (250 MHz, CDCl₃):

δ (ppm)	Multiplizität	Integration	Zuordnung
2.82-2.94	t (J = 7.0 Hz)	2H	Ph-CH ₂ -CH ₂
3.62-3.74	q (J = 7.0 Hz)	2H	Ph-CH ₂ -CH ₂
3.91	s	3H	O-CH ₃
6.20-6.37	brs	1H	NH
6.85-6.94	d (J = 8.4 Hz)	1H	arom., H5'
7.07-7.15	dd (J = 2.2, 8.4 Hz)	1H	arom., H6'
7.24-7.29	d (J = 2.2 Hz)	1H	arom., H2'
7.37-7.56	mc	3H	arom.
7.67-7.77	mc	2H	arom.

6-Chloro-7-methoxy-1-phenyl-3,4-dihydroisochinolin (149)

13,3 g (45,9 mmol) N-[2-(3-Chloro-4-methoxyphenyl)ethyl]benzamid (**148**) werden in einem Gemisch aus 150 ml POCl₃ und 15 g (105 mmol) P₂O₅ gelöst und unter Rühren und Rückfluss 4 h erhitzt. Nach dem Abkühlen versetzt man vorsichtig mit ca. 800 ml Eiswasser, extrahiert mit 2x100 ml CH₂Cl₂ und alkalisiert die wässrige Phase mit konz. NH₃. Es wird erneut mit 3x100 ml CH₂Cl₂ extrahiert, abgedampft und das verbleibende Öl aus Aceton umkristallisiert. Nach mehreren Tagen entsteht ein kristalliner Niederschlag, der abfiltriert und im Vakuum getrocknet wird.

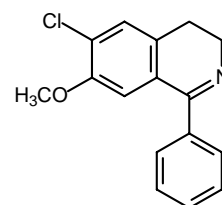
Ausbeute: 6 g, 48 %, weißer Feststoff

Schmelzpunkt: 97°C, Lit.: rötliches Öl [Charifson, 1988]

R_f-Wert: 0,85 (CHCl₃/5%MeOH)

IR (KBr, cm⁻¹): 3460, 2945, 2830, 1600, 1554, 1496, 1270, 1064

MG: C₁₆H₁₄ClNO (271,75 g/mol)



Hochauflösende Masse:

gemessen: 272,0843

berechnet für C₁₆H₁₅ClNO: 272,0842

GC/MS: t_R = 19.51 min.

m/z (% rel. Int.) = 270 [M-H]⁺ (100.0), 255(6.7), 240(8.7), 220(6.1), 208(4.4), 199(3.5), 192(8.4), 178(2.3), 165(10.7), 139(1.7), 117(3.2), 102(2.9), 95(3.4), 89(4.2), 77(2.9), 63(2.6), 51(2.6)

¹H-NMR (250 MHz, CDCl₃):

δ (ppm)	Multiplizität	Integration	Zuordnung
2.58-2.72	t	2H	Ph-CH ₂
3.67	s	3H	O-CH ₃
3.70-3.83	mc	2H	Ph-CH ₂ -CH ₂
6.76	s	1H	arom., H8
7.22	s	1H	arom., H5
7.31-7.45	mc	3H	arom.
7.48-7.58	mc	2H	arom.

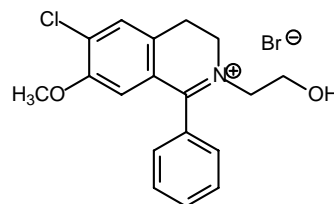
6-Chloro-2-(2-hydroxyethyl)-7-methoxy-1-phenyl-3,4-dihydroisochinoliniumbromid (150)

5,3 g (19,5 mmol) 6-Chloro-7-methoxy-1-phenyl-3,4-dihydroisochinolin (**149**) werden in 50 ml trockenem Toluol gelöst, mit 5 g (40 mmol) 2-Bromethanol versetzt und unter Rühren und Stickstoffatmosphäre bei 90°C 42 h erhitzt. Nach dem Abkühlen wird das Lösungsmittel entfernt und der verbleibende Feststoff zweimal aus Aceton umkristallisiert.

Ausbeute: 6,5 g, 83 %, hellgrünes Pulver

Schmelzpunkt: 197°C

MG: C₁₈H₁₉BrClNO₂ (396,71 g/mol)



$^1\text{H-NMR}$ (250 MHz, $[\text{D}_6]\text{-DMSO}$):

δ (ppm)	Multiplizität	Integration	Zuordnung
3.27-3.40	t ($J = 7.8$ Hz)	2H	Ph-CH ₂
3.35-3.50	brs	1H	OH
3.58	s	3H	O-CH ₃
3.71-3.85	mc	2H	CH ₂ -OH
3.87-4.00	mc	2H	CH ₂ -CH ₂ -OH
4.25-4.42	t ($J = 7.8$ Hz)	2H	Ph-CH ₂ -CH ₂
6.42	s	1H	arom., H8
7.63-7.78	mc	6H	arom.
7.81	s	1H	arom., H5

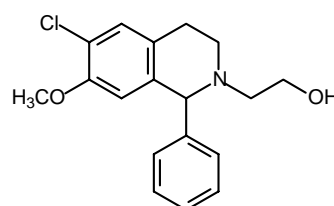
6-Chloro-2-(2-hydroxyethyl)-7-methoxy-1-phenyl-1,2,3,4-tetrahydroisochinolin (151)

6,46 g (16,28 mmol) 6-Chloro-2-(2-hydroxyethyl)-7-methoxy-1-phenyl-3,4-dihydroisochinoliniumbromid (**150**) werden in 100 ml dest. MeOH gelöst und unter Rühren und Eiskühlung langsam mit 2,2 g (57,9 mmol) NaBH₄ versetzt. Nach Abklingen der Wasserstoffentwicklung wird das Lösungsmittel im Vakuum entfernt, das verbleibende Öl in 100 ml 2%iger NaOH-Lösung aufgenommen, mit 3x50 ml Ether extrahiert, die org. Phase über MgSO₄ getrocknet, abfiltriert und wiederum abgedampft. Ein klares, hellgelbes Öl verbleibt, welches nicht zur Kristallisation gebracht werden kann.

Ausbeute: 4,7 g, 91 %, hellgelbes Öl, Lit.: 18% [Minor, 1994]

R_f-Wert: 0,67 (EtOH)

MG: C₁₈H₂₀ClNO₂ (317,82 g/mol)



$^1\text{H-NMR}$ (250 MHz, CDCl₃):

δ (ppm)	Multiplizität	Integration	Zuordnung
2.30-2.88	m	6H	Ph-CH ₂ -CH ₂ -N-CH ₂
2.90-3.20	mc ($J = 11.9$ Hz)	1H	CH-OH
3.30-3.46	mc ($J = 11.9$ Hz)	1H	CH-OH
3.55	s	3H	O-CH ₃
4.54	s	1H	Ph-CH-Ph
6.18	s	1H	arom., H8
6.90-7.40	mc	6H	arom.

2-(1-Chloro-4-methoxyphenyl)ethylamin-Hydrochlorid (105)

10 g (66,1 mmol) 3-Methoxyphenylethylamin werden nach Yu *et al* [Yu, 2001] in 130 ml Eisessig gelöst und unter Rühren und Kühlung tropfenweise mit 13,4 g (99,2 mmol) Sulfurylchlorid versetzt, wobei die Temperatur nicht über 25°C steigen soll. Es bildet sich eine Suspension, die sich aber im Laufe der Reaktion wieder auflöst. Nach 3 h wird mit ca. 200 ml Ether versetzt und 1h gerührt. Der entstandene Niederschlag wird abfiltriert und aus MeOH/Ether umkristallisiert.

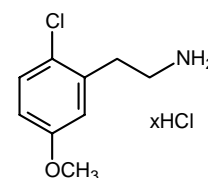
Ausbeute: 2,4 g, 20 %, weißer Feststoff

Schmelzpunkt: 147°C

R_f-Wert: 0,10 (EtOH)

IR (KBr, cm⁻¹): 3460, 2984, 2077, 1580, 1483, 1277, 1167

MG: C₉H₁₃Cl₂NO (222,11 g/mol)



GC/MS: $t_R = 11.03$ min.

m/z (% rel. Int.) = 184 $[M-H]^+$ (0.9), 168(1.1), 156(30.0), 149(100.0), 141(5.9), 134(7.1), 125(8.6), 121(15.9), 112(5.4), 105(3.9), 89 (13.4), 77(23.1), 63(9.8), 51(11.8)

1H -NMR (250 MHz, $[D_6]$ -DMSO):

δ (ppm)	Multiplizität	Integration	Zuordnung
2.93-3.05	s	4H	Ph-CH ₂ -CH ₂ -NH ₂
3.74	s	3H	O-CH ₃
6.80-6.92	dd ($J = 3.0, 8.7$ Hz)	1H	arom., H4
6.94-7.02	d ($J = 3.0$ Hz)	1H	arom., H6
7.28-7.38	d ($J = 8.8$ Hz)	1H	arom., H3
8.00-8.60	s	3H	NH ₃ ⁺

^{13}C -NMR + DEPT ($[D_6]$ -DMSO):

δ (ppm)	Zuordnung	δ (ppm)	Zuordnung
30.82	Ph-CH ₂ -CH ₂ -NH ₂	124.07	arom., C2
38.07	Ph-CH ₂ -CH ₂ -NH ₂	129.99	arom., C3
55.40	O-CH ₃	135.87	arom., C1
114.14	arom., C4	158.19	arom., C5
116.43	arom., C6		

2-(2-Hydroxyethyl)-N-[2-(1-chloro-4-methoxyphenyl)ethyl]benzamid (106)

5 g (26,9 mmol) 2-(1-Chloro-4-methoxyphenyl)ethylamin (**105**) und 4 g (27 mmol) Isochromanon (**54**) werden unter Rühren bei 120°C 5 h erhitzt. Nach dem Abkühlen nimmt man das Öl in 50 ml CHCl₃ auf und extrahiert mit 2x30 ml 2N-HCl-Lösung. Die org. Phase wird im Vakuum entfernt, das verbleibende Öl in 50 ml 10%iger NaOH-Lösung aufgenommen und bei 70°C ½ h gerührt. Nach dem Abkühlen extrahiert man mit 3x40 ml CH₂Cl₂, trocknet über MgSO₄ und dampft ab. Es verbleibt ein klares, braunes Öl.

Ausbeute: 1,7 g, 19 %, braunes Öl

R_f -Wert: 0,27 (Ether)

IR (KBr, cm⁻¹): 3490, 3200-3000, 2850, 1614, 1503

MG: C₁₈H₂₀ClNO₃ (333,81 g/mol)

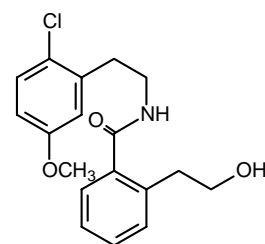
Hochauflösende Masse:

gemessen: 334,1204

berechnet für C₁₈H₂₁ClNO₃: 334,1210

1H -NMR (250 MHz, CDCl₃):

δ (ppm)	Multiplizität	Integration	Zuordnung
2.83-2.94	t ($J = 5.7$ Hz)	2H	Ph-CH ₂
2.96-3.08	t ($J = 6.9$ Hz)	2H	Ph-CH ₂
3.13-3.20	s	1H	OH
3.60-3.76	s, mc	5H	O-CH ₃ , Ph-CH ₂ -CH ₂ -NH
3.79-3.89	m	3H	Ph-CH ₂ -CH ₂ -OH, NH
6.68-6.75	dd ($J = 3.0, 8.7$ Hz)	1H	arom., H4'
6.79-6.83	d ($J = 3.0$ Hz)	1H	arom., H6'
7.14-7.40	m ($J = 8.7$ Hz)	5H	arom.



2-[2-({[2-(1-Chloro-4-methoxyphenyl)ethyl]amino}carbonyl)phenyl]ethyl-ethyl-carbonat (107)

0,8 g (2,4 mmol) 2-(2-Hydroxyethyl)-N-[2-(1-chloro-4-methoxyphenyl)ethyl]benzamid (**106**) werden in einer Mischung aus Pyridin/CHCl₃ (30ml/15ml) gelöst und unter Rühren bei Raumtemperatur tropfenweise mit 2 g (18,9 mmol) Chlorameisensäureethylester, gelöst in 15 ml CHCl₃, innerhalb ½ h versetzt. Es wird eine weitere Stunde bei Raumtemperatur gerührt, das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und der Rückstand in 60 ml CH₂Cl₂ aufgenommen. Die org. Lösung wird mit je 2x20 ml 2N-HCl-Lösung, 2N-NaOH-Lösung und Wasser gewaschen, über MgSO₄ getrocknet, abgedampft und das verbleibende Öl mit wenig Ether versetzt. Durch Kühlen und Ankratzen der Lösung entsteht innerhalb weniger Minuten ein weißer Feststoff, der abfiltriert, mit Ether gewaschen und im Vakuum getrocknet wird.

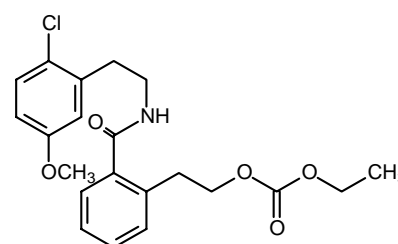
Ausbeute: 0,45 g, 46 %, weißes Pulver

Schmelzpunkt: 87°C

R_f-Wert: 0,70 (EtOH)

IR (KBr, cm⁻¹): 3450, 3305, 2971, 1750, 1632, 1541

MG: C₂₁H₂₄ClNO₅ (405,87 g/mol)



Hochauflösende Masse:

gemessen: 428,1242

berechnet für C₂₁H₂₄ClNNaO₅: 428,1241

¹H-NMR (250 MHz, CDCl₃):

δ (ppm)	Multiplizität	Integration	Zuordnung
1.19-1.36	t (J = 7.1 Hz)	3H	O-CH ₂ -CH ₃
3.02-3.20	dt (J = 6.6, 7.0 Hz)	4H	Ph-CH ₂
3.67-3.80	q (J = 7.0 Hz)	2H	Ph-CH ₂ -CH ₂ -NH
3.80	s	3H	O-CH ₃
4.07-4.22	q (J = 7.1 Hz)	2H	O-CH ₂ -CH ₃
4.33-4.43	t (J = 6.6 Hz)	2H	Ph-CH ₂ -CH ₂ -O
6.07-6.25	brt	1H	NH
6.72-6.80	dd (J = 3.0, 8.7 Hz)	1H	arom., H4'
6.85-6.90	d (J = 3.0 Hz)	1H	arom., H6'
7.21-7.32	m (J = 8.7 Hz)	3H	arom.
7.32-7.43	m	2H	arom.

4-Chloro-1-methoxy-5,6,8,9-tetrahydro-13bH-dibenzo[a,h]chinolizin (108)

0,45 g (1,1 mmol) 2-[2-({[2-(1-Chloro-4-methoxyphenyl)ethyl]amino}carbonyl)phenyl]ethyl-ethyl-carbonat (**107**) werden in 15 ml POCl₃ gelöst und unter Rühren bei 120°C 7 h erhitzt. Nach dem Abkühlen versetzt man die Lösung mit 100 ml Petrolether (60/40), schüttelt intensiv und dekantiert vom sich absetzenden schwarzen Öl ab. Das Öl wird wie oben beschrieben mit weiteren 5x20 ml Petrolether digeriert und der Rückstand in 50 ml Wasser aufgenommen. Man extrahiert mit 2x30 ml Ether, verwirft die Ether-Phase, extrahiert nochmals mit 5x30 ml CH₂Cl₂ und entfernt das Lösungsmittel im Vakuum. Das verbleibende Öl wird mit 100 ml einer 20%igen ethanolischen (70%) KOH-Lösung versetzt und bei Raumtemperatur 24 h gerührt. Nach Abdampfen der Lösung wird in 50 ml Wasser aufgenommen, mit 5x40 ml Chloroform extrahiert und anschließend die org. Phase abgedampft. Der Rückstand wird in 15 ml POCl₃ gelöst und unter Rühren bei 60°C ½ h erhitzt. Nach dem Abkühlen versetzt man die Lösung mit 150 ml Petrolether (60/40), schüttelt intensiv und dekantiert vom sich absetzenden schwarzen Öl ab. Das Öl wird wie

oben beschrieben mit weiteren 5x20 ml Petrolether digeriert. Anschließend wird der schwarze Rückstand in 40 ml Methanol aufgenommen, unter Rühren und Eiskühlung langsam mit 3 g NaBH₄ versetzt und ½ h unter Rückfluss erhitzt. Nach Entfernen des Lösungsmittels im Vakuum erfolgt Aufnahme in 100 ml Wasser, Extraktion der wässrigen Phase mit 3x30 ml CH₂Cl₂ und Trocknen der org. Phase über MgSO₄. Filtration und Abdampfen der Lösung, sowie Umkristallisation aus Ether führt zu einem weißen Feststoff, der im Vakuum getrocknet wird.

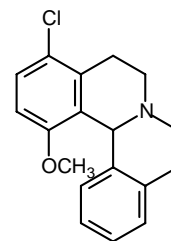
Ausbeute: 0,1 g, 30 %, weißer Feststoff

Schmelzpunkt: 162°C

R_F-Wert: 0,76 (EtOH)

IR (KBr, cm⁻¹): 3434, 2920, 1590, 1466, 1440, 1260, 1081

MG: C₁₈H₁₈ClNO (299,79 g/mol)



Hochauflösende Masse:

gemessen: 300,1157

berechnet für C₁₈H₁₉ClNO: 300,1155

GC/MS: t_R = 21.96 min.

m/z (% rel. Int.) = 298 [M-H]⁺ (100.0), 282(13.2), 264(22.9), 232(2.3), 220(2.1), 208(6.5), 195(11.8), 179(6.5), 168(6.5), 151(3.2), 142(4.1), 130(4.6), 115(8.8), 105(17.4), 89(4.6), 77(7.0), 63(3.0), 51(2.8)

¹H-NMR (250 MHz, CDCl₃):

δ (ppm)	Multiplizität	Integration	Zuordnung
2.70-3.04	m	5H	Ph-CH ₂ -CH ₂
3.05-3.24	m	1H	Ph-CH ₂ -CH ₂
3.28-3.40	ddd (J = 7.3, 13.7 Hz)	1H	Ph-CH ₂ -CH ₂
3.63-3.78	ddd (J = 7.3, 13.7 Hz)	1H	Ph-CH ₂ -CH ₂
3.87	s	3H	O-CH ₃
5.43	s	1H	Ph-CH ₂ -Ph
6.70-6.78	d (J = 7.6 Hz)	1H	arom.
6.78-6.85	d (J = 8.8 Hz)	1H	arom., H2
7.01-7.21	mc	3H	arom.
7.27-7.35	d (J = 8.7 Hz)	1H	arom., H3

4-Chloro-1-methoxy-7-methyl-5,6,8,9-tetrahydro-13bH-dibenzo[a,h]chinoliziniumiodid (109)

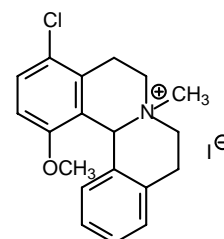
0,073 g (0,24 mmol) 4-Chloro-1-methoxy-5,6,8,9-tetrahydro-13bH-dibenzo[a,h]chinolizin (**108**) werden in 10 ml trockenem Aceton gelöst, mit Methyljodid im Überschuss versetzt und unter Rühren und Stickstoffatmosphäre bei 60°C 16 h gerührt. Der nach dem Kühlen entstandene Niederschlag wird abfiltriert, mit Aceton gewaschen und im Vakuum getrocknet.

Ausbeute: 70 mg, 65 %, weißer Feststoff

Schmelzpunkt: 230°C

IR (KBr, cm⁻¹): 2890, 1587, 1466, 1433, 1290

MG: C₁₉H₂₁ClINO (441,74 g/mol)



Hochauflösende Masse:

gemessen: 314,1310
berechnet für $C_{19}H_{21}ClNO$: 314,1312

Elementaranalyse:

gemessen: $C(\%) = 50,33$; $H(\%) = 4,74$; $N(\%) = 2,99$
berechnet für $C_{19}H_{21}ClINO \times \frac{1}{2} H_2O$: $C(\%) = 50,63$; $H(\%) = 4,92$; $N(\%) = 3,11$

1H -NMR (200 MHz, $[D_6]$ -DMSO):

δ (ppm)	Multiplizität	Integration	Zuordnung
3.05-3.23	s, mc	5H	N-CH ₃ , Ph-CH ₂
3.28-3.49	mc	2H	Ph-CH ₂
3.52-3.75	mc	2H	Ph-CH ₂ -CH ₂
3.92	s	3H	O-CH ₃
3.96-4.05	mc	1H	Ph-CH ₂ -CH ₂
4.18-4.31	mc	1H	Ph-CH ₂ -CH ₂
6.07	s	1H	Ph-CH-Ph
6.57-6.68	d ($J = 7.9$ Hz)	1H	arom.
7.12-7.30	d,mc ($J = 8.8$ Hz)	2H	arom., H2
7.30-7.45	mc	2H	arom.
7.60-7.70	d ($J = 8.8$ Hz)	1H	arom., H3

1-Methoxy-7-methyl-5,6,7,8,9,14-hexahydrodibenz[*d,g*]azecin-Hydrochlorid (111)

In einen mit 0,2 g (0,45 mmol) 2-Chloro-1-methoxy-7-methyl-5,6,8,9-tetrahydro-13*bH*-dibenzo[*a,h*]chinoliziniumiodid (**109**) versetzten 100ml-Dreihalskolben, der mit einem Gaseinleitungsrohr, einem Luftballon zur Druckregulation und einem Stopfen verschlossen ist, wird unter Kühlung mit flüssigem Stickstoff ca. 50 ml Ammoniak einkondensiert. Anschließend wird das Kühlbad entfernt und der Ansatz bei ca. $-40^\circ C$ unter Stickstoffatmosphäre zügig mit kleinen Natriumstücken (ca. 4x4x4mm) versetzt, bis eine tiefblaue Farbe bestehen bleibt. Nach Beenden der Zugabe wird die Reaktion nach 22 min. durch Hinzufügen gesättigter Ammoniumchloridlösung, bis zum Verschwinden der Färbung, abgebrochen. Nach Abdampfen des Ammoniaks bei Raumtemperatur unter Stickstoffatmosphäre wird der Rückstand in 40 ml Wasser aufgenommen, mit 3x30 ml Ether ausgeschüttelt, die org. Phase über Magnesiumsulfat getrocknet und abgedampft. Das verbleibende Öl wird über Kieselgel 60 erst mit Ether, dann mit EtOH säulenchromatographisch gereinigt, anschließend mit etherischer Salzsäurelösung versetzt und der Niederschlag abfiltriert. Umkristallisation aus EtOH/Ether und Trocknen im Vakuum führt zu einem weißen Feststoff.

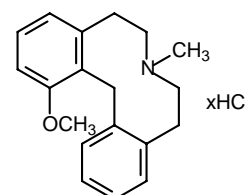
Ausbeute: 15 mg, 10 %, weißer Feststoff

Schmelzpunkt: $244^\circ C$

R_f -Wert: 0,14 (EtOH) (Base)

IR (KBr, cm^{-1}): 3430, 2637, 1645, 1464, 1264

MG: $C_{19}H_{24}ClNO$ (317,85 g/mol)



Elementaranalyse:

gemessen: $C(\%) = 66,51$; $H(\%) = 7,44$; $N(\%) = 3,96$
berechnet für $C_{19}H_{23}NO \times \frac{4}{3} H_2O$: $C(\%) = 66,75$; $H(\%) = 7,86$; $N(\%) = 4,10$

GC/MS: t_R = 18.70 min.

m/z (% rel. Int.) = 281 [M]⁺ (56.1), 266(15.5), 250(10.9), 238(5.8), 223(63.5), 209(60.7), 193(30.7), 176(100.0), 160(48.1), 146(82.1), 133(10.4), 115(32.6), 105(16.1), 91(22.2), 71(12.1), 58(69.1)

¹H-NMR (200 MHz, MeOD):

δ (ppm)	Multiplizität	Integration	Zuordnung
2.83-2.93	s	3H	N-CH ₃
3.10-3.40	m	4H	Ph-CH ₂
3.42-3.70	m	4H	Ph-CH ₂ -CH ₂
3.81-3.88	s	3H	O-CH ₃
4.15-4.25	dd (J = 14.5 Hz)	2H	Ph-CH ₂ -Ph
6.79-6.87	dd (J = 1.1, 7.7 Hz)	1H	arom., H2
6.88-6.96	dd (J = 1.1, 8.0 Hz)	1H	arom., H4
7.10-7.27	m (J = 7.7, 8.0 Hz)	4H	arom., H3, H10-12
7.54-7.65	mc	1H	arom., H13

4-Chloro-1-hydroxy-7-methyl-5,6,8,9-tetrahydro-13b*H*-dibenzo[*a,h*]chinoliziniumbromid (110)

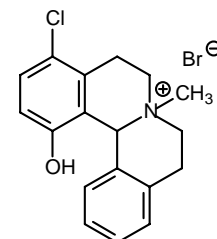
0,26 g (0,59 mmol) 4-Chloro-1-methoxy-7-methyl-5,6,8,9-tetrahydro-13b*H*-dibenzo[*a,h*]chinoliziniumiodid (**109**) werden in 30 ml 47%iger HBr-Lösung gelöst und unter Rühren 4 h unter Rückfluss erhitzt. Anschließend wird das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und der weiße Rückstand in Aceton suspendiert, abfiltriert, mit Ether gewaschen und im Vakuum getrocknet.

Ausbeute: 0,18 g, 82 %, weißer Feststoff

Schmelzpunkt: 209°C

IR (KBr, cm⁻¹): 3421, 3061, 1709, 1590, 1460, 1290

MG: C₁₈H₁₉BrClNO (380,71 g/mol)



Elementaranalyse:

gemessen: C(%) = 54,01; H(%) = 5,48; N(%) = 3,54

berechnet für C₁₈H₁₉BrClNO x H₂O: C(%) = 54,22; H(%) = 5,31; N(%) = 3,51

¹H-NMR (200 MHz, [D₆]-DMSO):

δ (ppm)	Multiplizität	Integration	Zuordnung
2.94-3.10	m	2H	Ph-CH ₂
3.15	s	3H	N-CH ₃
3.22-3.35	m	2H	Ph-CH ₂
3.56-3.76	mc	2H	Ph-CH ₂ -CH ₂
3.88-4.08	mc	1H	Ph-CH ₂ -CH ₂
4.13-4.35	mc	1H	Ph-CH ₂ -CH ₂
5.99	s	1H	Ph-CH-Ph
6.72-6.81	dd (J = 8.0 Hz)	1H	arom.
6.98-7.07	d (J = 8.7 Hz)	1H	arom., H2
7.13-7.29	mc	1H	arom.
7.29-7.37	mc	2H	arom.
7.39-7.47	d (J = 8.6 Hz)	1H	arom., H3
10.68	s	1H	OH

1-Hydroxy-7-methyl-5,6,7,8,9,14-hexahydrodibenz[*d,g*]azecin-Hydrochlorid (112)

In einen mit 0,15 g (0,35 mmol) 2-Chloro-1-hydroxy-7-methyl-5,6,8,9-tetrahydro-13b-*H*-dibenzo[*a,h*]chinoliziniumbromid (**110**) versetzten 100ml-Dreihalskolben, der mit einem Gaseinleitungsrohr, einem Luftballon zur Druckregulation und einem Stopfen verschlossen ist, wird unter Kühlung mit flüssigem Stickstoff ca. 50 ml Ammoniak einkondensiert. Anschließend wird das Kühlbad entfernt und der Ansatz bei ca. -40°C unter Stickstoffatmosphäre zügig mit kleinen Natriumstücken (ca. 4x4x4mm) versetzt, bis eine tiefblaue Farbe bestehen bleibt. Nach Beenden der Zugabe wird die Reaktion nach 15 min. durch Hinzufügen gesättigter Ammoniumchloridlösung, bis zum Verschwinden der Färbung, abgebrochen. Nach Abdampfen des Ammoniaks bei Raumtemperatur unter Stickstoffatmosphäre wird der Rückstand in 40 ml Wasser aufgenommen, mit 6x30 ml Ether ausgeschüttelt, die org. Phase über Magnesiumsulfat getrocknet und abgedampft. Das verbleibende Öl wird mit etherischer Salzsäurelösung versetzt und der Niederschlag abfiltriert. Umkristallisation aus EtOH/Ether führt zu einem weißen Feststoff.

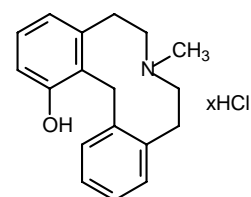
Ausbeute: 68 mg, 64 %, weißer Feststoff

Schmelzpunkt: 267°C

R_f-Wert: 0,26 (EtOH) (Base)

IR (KBr, cm⁻¹): 3498, 3112, 2585, 1587, 1471, 1283

MG: C₁₈H₂₂ClNO (303,83 g/mol)



Elementaranalyse:

gemessen:

C(%) = 69,87; H(%) = 7,47; N(%) = 4,31

berechnet für C₁₈H₂₂ClNO x 1/3 H₂O: C(%) = 69,78; H(%) = 7,37; N(%) = 4,52

GC/MS: t_R = 19.02 min.

m/z (% rel. Int.) = 267 [M]⁺ (77.5), 252(23.7), 221(13.3), 209(95.5), 195(99.4), 178(32.7), 162(95.1), 146(92.9), 133(24.3), 115(39), 104(16.7), 91(31.6), 77(21.7), 71(58.9), 58(100.0)

¹H-NMR (200 MHz, MeOD):

δ (ppm)	Multiplizität	Integration	Zuordnung
2.88	s	3H	N-CH ₃
3.05-3.90	m	8H	Ph-CH ₂ -CH ₂
4.05-4.35	dd (J = 14.8 Hz)	2H	Ph-CH ₂ -Ph
6.64-6.73	dd (J = 1.3, 7.5 Hz)	1H	arom., H2
6.74-6.83	dd (J = 1.3, 8.0 Hz)	1H	arom., H4
6.96-7.08	t (J = 7.5, 8.0 Hz)	1H	arom., H3
7.09-7.24	m	3H	arom., H10-12
7.70-7.82	m	1H	arom., H13

¹³C-NMR (MeOD):

δ (ppm)	Zuordnung
26.88	Ph-CH ₂
27.52	Ph-CH ₂
28.41	Ph-CH ₂ -Ph
44.17	N-CH ₃
55.92	Ph-CH ₂ -CH ₂
57.99	Ph-CH ₂ -CH ₂
113.83	arom., C2
120.62	arom., C4
126.28	arom.

δ (ppm)	Zuordnung
126.52	arom., quart.
126.63	arom.
126.98	arom.
129.35	arom.
131.17	arom.
135.07	arom., quart.
136.16	arom., quart.
139.74	arom., quart.
155.41	arom., C1

2-(3-Methoxyphenyl)ethylalkohol (114)

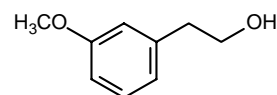
50 g (0,3 mol) 3-Methoxyphenylessigsäure, gelöst in 200 ml trockenem THF, werden tropfenweise zu einer Suspension aus 11,4 g (0,3 mol) LiAlH₄ in 200 ml trockenem THF gegeben und 24 h bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wird mit ca. 600 ml 2N-NaOH-Lösung alkalisiert, über Kieselgur filtriert und die org. Phase abgetrennt. Die wässrige Phase wird mit 5x50 ml CHCl₃ extrahiert, die org. Phasen vereinigt, über MgSO₄ getrocknet und im Vakuum entfernt. Es verbleibt ein DC- und GC/MS-reines Öl.

Ausbeute: 36,1 g, 79 %, klares Öl, Lit.: 90% [Hunter, 1949]

R_F-Wert: 0,70 (EtOH)

IR (KBr, cm⁻¹): 3430, 2945, 1606, 1496, 1445, 1258, 1050

MG: C₉H₁₂O₂ (152,19 g/mol)



GC/MS: t_R = 8.74 min.

m/z (% rel. Int.) = 152 [M]⁺• (75.0), 134(6.9), 121(100.0), 107(15.4), 91(47.7), 77(21.1), 65(11.6), 51(7.2)

¹H-NMR (250 MHz, CDCl₃):

δ (ppm)	Multiplizität	Integration	Zuordnung
1.51-1.59	s	1H	OH
2.79-2.91	t (J = 6.4 Hz)	2H	Ph-CH ₂ -CH ₂ -OH
3.80-3.82	s	3H	O-CH ₃
3.82-3.91	t (J = 6.4 Hz)	2H	Ph-CH ₂ -CH ₂ -OH
6.74-6.87	m	3H	arom., H2, H4, H6
7.19-7.30	m	1H	arom., H5

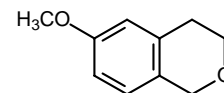
6-Methoxyisochroman (116)

Eine Mischung aus 15,6 g (102 mmol) 2-(3-Methoxyphenyl)ethylalkohol (**114**) und 3,0 g (102 mmol) Paraformaldehyd wird vorsichtig bei -10°C mit HCl-Gas versetzt, bis ein klares Öl entsteht (ca. 1 h). Das Öl wird in 300 ml 20%iger NaOH-Lösung aufgenommen, das Gefäß mit wenig acetonischer NaOH-Lösung gespült, beides vereint und 1 h unter Rühren und Rückfluss erhitzt. Nach dem Abkühlen extrahiert man mit 3x50 ml Ether, trocknet die org. Phase über MgSO₄, filtriert ab und entfernt das Lösungsmittel im Vakuum. Es verbleibt ein hellgelbes Öl, welches durch Destillation nicht weiter gereinigt werden konnte und als Rohprodukt weiter umgesetzt wurde.

Ausbeute: 5 g, 30 %, klares Öl, Lit.: 45% [Unterhalt, 1996]

R_F-Wert: 0,67 (EtOH)

MG: C₁₀H₁₂O₂ (164,20 g/mol)



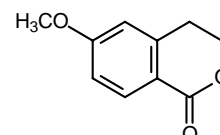
GC/MS: t_R = 9.83 min.

m/z (% rel. Int.) = 163 [M-H]⁺• (100.0), 148(2.4), 134(28.4), 121(6.0), 103(11.7), 91(20.7), 77(12.7), 65(10.0), 51(7.0)

6-Methoxyisochroman-1-on (117)

Zu einer Lösung aus 8,9 g (54,3 mmol) 6-Methoxyisochroman (**116**) und 3,65 g (16,3 mmol) TEBA in 120 ml CH₂Cl₂ werden 25,2 g (158,7 mmol) durch Vermörsern fein gepulvertes KMnO₄ zugegeben. Das Reaktionsgemisch wird 19 h im Ultraschallbad refluxiert. Nach dem Abkühlen wird bis zur vollständigen Entfärbung der Lösung mit einer 20%igen Natriumsulfit-Lösung versetzt. Die Lösung wird abfiltriert und der Rückstand mit 3x50 ml Dichlormethan gewaschen. Die org. Phase wird abgetrennt und mit je 30 ml 2N-NaOH-Lösung und 2N-H₂SO₄-Lösung gewaschen, anschließend über MgSO₄ getrocknet, abfiltriert und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Das verbleibende Öl wird aus Ether umkristallisiert und bildet weiße Kristalle.

Ausbeute: 6,5 g, 67 %, weiße Kristalle
 Schmelzpunkt: 57°C, Lit.: 60-62°C [Larock, 1982]
 R_f-Wert: 0,84 (EtOH)
 IR (KBr, cm⁻¹): 3460, 1632, 1400, 1271
 MG: C₁₀H₁₀O₃ (178,19 g/mol)



GC/MS: t_R = 14.27 min.

m/z (% rel. Int.) = 178 [M]⁺ (71.9), 161(0.1), 148(100.0), 135(2.0), 120(28.9), 105(6.3), 91(14.5), 77(12.1), 63(6.7), 51(9.9)

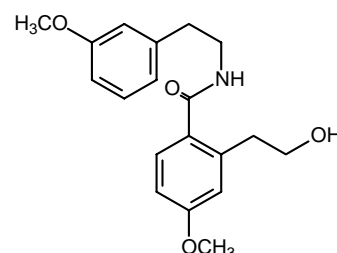
¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃):

δ (ppm)	Multiplizität	Integration	Zuordnung
2.93-3.03	t (J = 6.2 Hz)	2H	Ph-CH ₂ -CH ₂ -O
3.80-3.87	s	3H	O-CH ₃
4.43-4.52	t (J = 6.2 Hz)	2H	Ph-CH ₂ -CH ₂ -O
6.65-6.72	s	1H	arom., H5
6.82-6.90	dd (J = 2.6, 8.8 Hz)	1H	arom., H7
7.97-8.05	d (J = 8.8 Hz)	1H	arom., H8

2-(2-Hydroxyethyl)-4-methoxy-N-[2-(3-methoxyphenyl)ethyl]benzamid (118)

3,6 g (24 mmol) 3-Methoxyphenylethylamin werden mit 2,1 g (12 mmol) 6-Methoxyisochroman-1-on (**117**) und 0,3 g NH₄Cl versetzt und 2 h bei 140°C gerührt. Nach dem Abkühlen wird in 50 ml CHCl₃ aufgenommen und mit 2x30 ml 2N-HCl-Lösung extrahiert. Die org. Phase wird abgedampft, das verbleibende Öl mit 50 ml 20%iger NaOH-Lösung versetzt und ½ h unter Rühren bei 70°C erhitzt. Nach dem Abkühlen extrahiert man mit 3x40 ml CHCl₃, entfernt das Lösungsmittel im Vakuum und versetzt den Rückstand mit wenig Ether/Ethylacetat. Über Nacht kommt es zur Kristallisation.

Ausbeute: 1,7 g, 43 %, weißer Feststoff
 Schmelzpunkt: 83°C
 R_f-Wert: 0,24 (Ether)
 IR (KBr, cm⁻¹): 3460, 2855, 1606, 1574, 1265, 1161, 774, 696
 MG: C₁₉H₂₄NO₄ (329,39 g/mol)



Elementaranalyse:

gemessen: C(%) = 68,71; H(%) = 7,12; N(%) = 4,01
 berechnet für C₁₉H₂₄NO₄ x 1/7 H₂O: C(%) = 68,74; H(%) = 7,07; N(%) = 4,22

¹H-NMR (200 MHz, CDCl₃):

δ (ppm)	Multiplizität	Integration	Zuordnung
2.84-3.00	t (<i>J</i> = 6.0 Hz)	4H	Ph-CH ₂ , Ph-CH ₂
3.62-3.75	q (<i>J</i> = 6.0 Hz)	2H	Ph-CH ₂ -CH ₂ -NH
3.75-3.83	s,s	6H	2x O-CH ₃
3.83-3.95	t (<i>J</i> = 5.9 Hz)	2H	Ph-CH ₂ -CH ₂ -OH
4.10-4.40	brs	1H	OH
6.27-6.41	brt	1H	NH
6.66-6.90	m	5H	arom.
7.16-7.32	m	2H	arom.

3,11-Dimethoxy-5,6,8,9-tetrahydro-13b*H*-dibenzo[*a,h*]chinolizin (119)

1,0 g (3,0 mmol) 2-(2-Hydroxyethyl)-4-methoxy-N-[2-(3-methoxyphenyl)ethyl]benzamid (**118**) werden in 20 ml POCl₃ gelöst und unter Rühren 5 h bei 120 °C unter Rückfluss erhitzt. Nach dem Abkühlen wird mit 50 ml Petrolether (60/40) übergossen und stark geschüttelt. Überstehender Petrolether wird vom sich absetzenden schwarzen Öl dekantiert und das Öl mit weiteren 6x20 ml Petrolether digeriert. Der schwarze Rückstand wird in 60 ml Methanol aufgenommen und unter Rühren und Eiskühlung portionsweise mit 3 g NaBH₄ versetzt, ½ h unter Rückfluss erhitzt und anschließend das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Lösen des verbleibenden Feststoffes in 50 ml Wasser, Extrahieren mit 3x30 ml CHCl₃ und Abdampfen der org. Phase im Vakuum führt zu einem beigen Feststoff.

Ausbeute: 0,6 g, 66 %, beiger Feststoff

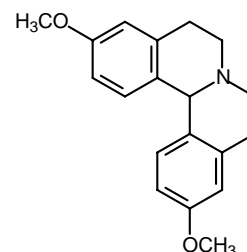
Schmelzpunkt: 104°C

R_f-Wert: 0,28 (EtOH)IR (KBr, cm⁻¹): 3421, 2907, 2830, 1612, 1496, 1251, 1161, 1129MG: C₁₉H₂₁NO₂ (295,38 g/mol)

Elementaranalyse:

gemessen:

C(%) = 76,37; H(%) = 7,41; N(%) = 4,42

berechnet für C₁₉H₂₁NO₂ x 1/5 H₂O: C(%) = 76,33; H(%) = 7,21; N(%) = 4,68GC/MS: t_R = 23.09 min.

m/z (% rel. Int.) = 294 [M-H]⁺ (100.0), 280(4.5), 266(8.3), 250(5.9), 236(4.7), 208(1.5), 191(1.1), 178(1.6), 160(4.2), 147(4.0), 134(4.2), 117(2.3), 103(2.3), 91(2.8), 77(2.3), 65(1.0)

¹H-NMR (250 MHz, CDCl₃):

δ (ppm)	Multiplizität	Integration	Zuordnung
2.80-2.94	t (<i>J</i> = 6.2 Hz)	4H	Ph-CH ₂
3.06-3.26	m (<i>J</i> = 6.2 Hz)	4H	Ph-CH ₂ -CH ₂
3.77	s	6H	O-CH ₃
4.98	s	1H	Ph-CH-Ph
6.62-6.74	d, dd (<i>J</i> = 2.7, 8.2 Hz)	4H	arom., H2, H4, H10, H12
7.04-7.12	d (<i>J</i> = 8.2 Hz)	2H	arom., H1, H13

3,11-Dimethoxy-7-methyl-5,6,8,9-tetrahydro-13b*H*-dibenzo[*a,h*]chinoliziniumiodid (120)

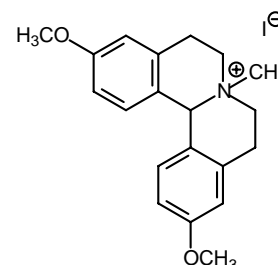
1,0 g (3,38 mmol) 3,11-Dimethoxy-5,6,8,9-tetrahydro-13b*H*-dibenzo[*a,h*]chinolizin (**119**) werden in 30 ml trockenem Aceton gelöst, mit Methyljodid im Überschuss versetzt und unter Rühren und Stickstoffatmosphäre bei 50°C 24 h lang erhitzt. Die org. Phase wird im Vakuum entfernt, der verbleibende, gelbe Feststoff mit 100 ml Ether gewaschen und im Vakuum getrocknet.

Ausbeute: 1,0 g, 67 %, weißer Feststoff

Schmelzpunkt: 239°C

IR (KBr, cm⁻¹): 3472, 1619, 1503, 1445, 1251, 1038

MG: C₂₀H₂₄INO₂ (437,32 g/mol)



Elementaranalyse:

gemessen:

C(%)= 53,43; H(%)= 5,83; N(%)= 2,84

berechnet für C₂₀H₂₄INO₂ × 1/3 H₂O: C(%)= 53,46; H(%)= 5,68; N(%)= 3,12

¹H-NMR (400 MHz, [D₆]-DMSO):

δ (ppm)	Multiplizität	Integration	Zuordnung
3.05-3.30	s, m	7H	N-CH ₃ , Ph-CH ₂
3.68-3.85	s, m	10H	O-CH ₃ , Ph-CH ₂ -CH ₂
5.79	s	1H	Ph-CH-Ph
6.87-6.96	d, dd (<i>J</i> = 2.6, 8.5 Hz)	4H	arom., H2, H4, H10, H12
6.99-7.05	d (<i>J</i> = 8.8 Hz)	2H	arom., H1, H13

3,11-Dimethoxy-7-methyl-5,6,7,8,9,14-hexahydrodibenz[*d,g*]azecin-Hydrochlorid (122)

In einen mit 0,17 g (0,38 mmol) 3,11-Dimethoxy-7-methyl-5,6,8,9-tetrahydro-13b*H*-dibenzo[*a,h*]chinoliziniumiodid (**120**) versetzten 100ml-Dreihalskolben, der mit einem Gaseinleitungsrohr, einem Luftballon zur Druckregulation und einem Stopfen verschlossen ist, werden unter Kühlung mit flüssigem Stickstoff ca. 60 ml Ammoniak einkondensiert. Anschließend wird das Kühlbad entfernt und der Ansatz bei ca. -40°C unter Stickstoffatmosphäre zügig mit kleinen Natriumstücken (ca. 4x4x4mm) versetzt, bis eine tiefblaue Farbe bestehen bleibt. Nach Beenden der Zugabe wird die Reaktion nach 16 min. durch Hinzufügen gesättigter Ammoniumchloridlösung, bis zum Verschwinden der Färbung, abgebrochen. Nach Abdampfen des Ammoniaks bei Raumtemperatur unter Stickstoffatmosphäre wird der Rückstand in 40 ml Wasser aufgenommen, mit 3x30 ml Ether ausgeschüttelt, die org. Phase über Magnesiumsulfat getrocknet und abgedampft. Das verbleibende Öl wird über Kieselgel 60 mit EtOH säulenchromatographisch gereinigt, anschließend mit etherischer Salzsäurelösung versetzt und der Niederschlag abfiltriert. Umkristallisation aus EtOH/Ether und Trocknen im Vakuum führt zu einem weißen Feststoff.

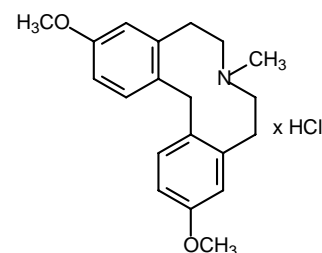
Ausbeute: 18 mg, 14 %, weiße Kristalle

Schmelzpunkt: 198°C

R_F-Wert: 0,13 (EtOH)

IR (KBr, cm⁻¹): 3447, 2958, 2611, 1619, 1503, 1464, 1258, 1045

MG: C₂₀H₂₆ClNO₂ (347,88 g/mol)



Elementaranalyse:

gemessen:

C(%)= 70,30; H(%)= 7,82; N(%)= 4,18

berechnet für C₂₀H₂₆ClNO₂:

C(%)= 69,05; H(%)= 7,53; N(%)= 4,03

GC/MS: $t_R = 20.92$ min.

m/z (% rel. Int.) = 311 [M]⁺• (24.8), 296(4.6), 268(4.2), 253(23.9), 239(17.5), 223(8.6), 209(5.7), 190(18.6), 176(100.0), 165(10.0), 147(9.7), 134(43.1), 115(6.9), 103(4.6), 91(9.4), 77(4.5), 71(14.6), 58(31.8)

¹H-NMR (250 MHz, MeOD):

δ (ppm)	Multiplizität	Integration	Zuordnung
2.89	s	3H	N-CH ₃
3.15-3.32	m, überl.	4H	Ph-CH ₂ -CH ₂
3.48-3.61	m, überl.	4H	Ph-CH ₂ -CH ₂
3.76	s	6H	O-CH ₃
4.03	s	2H	Ph-CH ₂ -Ph
6.75-6.85	d, dd ($J = 2.8, 8.3$ Hz)	4H	arom., H2, H4, H10, H12
7.32-7.41	d ($J = 8.3$ Hz)	2H	arom., H1, H13

3,11-Dihydroxy-7-methyl-5,6,8,9-tetrahydro-13bH-dibenzo[a,h]chinoliziniumbromid (121)

0,61 g (1,39 mmol) 3,11-Dimethoxy-7-methyl-5,6,8,9-tetrahydro-13bH-dibenzo[a,h]-chinoliziniumiodid (**120**) werden in 40 ml 47%iger HBr-Lösung gelöst und unter Rühren und Rückfluss 5 h erhitzt. Nach dem Abkühlen wird das Lösungsmittel im Vakuum entfernt, der Rückstand in 50 ml Methanol aufgenommen, mit Aktivkohle versetzt und unter Rühren und Rückfluss 1 h erhitzt. Es wird heiß filtriert und anschließend das Lösungsmittel abgedampft. Der verbleibende Feststoff wird aus Methanol/Ether umkristallisiert.

Ausbeute: 0,3 g, 59 %, beiger Feststoff

Schmelzpunkt: 297°C

IR (KBr, cm⁻¹): 3151, 1618, 1509, 1438, 1225, 867, 674

MG: C₁₈H₂₀BrNO₂ (362,27 g/mol)

Elementaranalyse:

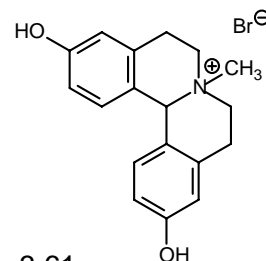
gemessen:

C(%) = 59,15; H(%) = 5,61; N(%) = 3,61

berechnet für C₁₈H₂₀BrNO₂ × 1/5 H₂O: C(%) = 59,09; H(%) = 5,62; N(%) = 3,83

¹H-NMR (250 MHz, [D₆]-DMSO):

δ (ppm)	Multiplizität	Integration	Zuordnung
3.00-3.25	s, m	7H	N-CH ₃ , Ph-CH ₂
3.62-3.86	mc	4H	Ph-CH ₂ -CH ₂
5.68	s	1H	Ph-CH-Ph
6.65-6.74	s, d ($J = 2.5$ Hz)	4H	arom., H2, H4, H10, H12
6.85-6.94	d ($J = 9.0$ Hz)	2H	arom., H1, H13
9.69	s	2H	OH



3,11-Dihydroxy-7-methyl-5,6,7,8,9,14-hexahydrodibenz[*d,g*]azecin (123)

In einen mit 0,1 g (0,28 mmol) 3,11-Dihydroxy-7-methyl-5,6,8,9-tetrahydro-13*bH*-dibenzo[*a,h*]chinoliziniumbromid (**121**) versetzten 100ml-Dreihalskolben der mit einem Gaseinleitungsrohr, einem Luftballon zur Druckregulation und einem Stopfen verschlossen ist, werden unter Kühlung mit flüssigem Stickstoff ca. 60 ml Ammoniak einkondensiert. Anschließend wird das Kühlbad entfernt und der Ansatz bei ca. -40°C unter Stickstoffatmosphäre zügig mit kleinen Natriumstücken (ca. 4x4x4mm) versetzt, bis eine tiefblaue Farbe bestehen bleibt. Nach Beenden der Zugabe wird die Reaktion nach 20 min. durch Hinzufügen gesättigter Ammoniumchloridlösung, bis zum Verschwinden der Färbung, abgebrochen. Nach Abdampfen des Ammoniaks bei Raumtemperatur unter Stickstoffatmosphäre wird der Rückstand in 40 ml Wasser aufgenommen, mit 2x40 ml Ether ausgeschüttelt, die org. Phase über Magnesiumsulfat getrocknet und im Vakuum entfernt. Es verbleibt ein weißer Feststoff, der mit wenig Ether gewaschen und im Vakuum getrocknet wird.

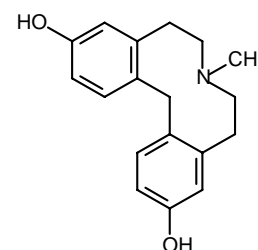
Ausbeute: 30 mg, 38 %, weißer Feststoff

Schmelzpunkt: 225°C

R_f -Wert: 0,16 (EtOH)

IR (KBr, cm^{-1}): 3400, 2915, 2740, 1615, 1578, 1455, 1250

MG: $\text{C}_{18}\text{H}_{21}\text{NO}_2$ (283,37 g/mol)



Elementaranalyse:

gemessen:

C(%)= 76,01; H(%)= 7,45; N(%)= 4,85

berechnet für $\text{C}_{18}\text{H}_{21}\text{NO}_2$:

C(%)= 76,30; H(%)= 7,47 ;N(%)= 4,94

GC/MS: t_R = 22.31 min.

m/z (% rel. Int.) = 283 [M]⁺ (38.8), 268(5.5), 254(1.4), 239(6.2), 225(45.7), 211(37.1), 195(4.8), 176(19.9), 162(100.0), 149(10.0), 133(14.9), 120(15.7), 107(6.8), 91(11.4), 77(9.2), 71(21.0), 58(36.4)

¹H-NMR (250 MHz, $\text{CDCl}_3/\text{MeOD}$):

δ (ppm)	Multiplizität	Integration	Zuordnung
2.46-2.53	s	3H	N-CH ₃
2.90-3.04	s	8H	Ph-CH ₂ -CH ₂
4.17-4.30	s	2H	Ph-CH ₂ -Ph
4.68-4.89	s	2H	OH
6.69-6.75	d (J = 2.7 Hz)	2H	arom., H4, H10
6.75-6.83	dd (J = 2.7, 8.2 Hz)	2H	arom., H2, H12
7.26-7.35	d (J = 8.2 Hz)	2H	arom., H1, H13

¹³C-NMR ($\text{CDCl}_3/\text{MeOD}$):

δ (ppm)	Zuordnung	δ (ppm)	Zuordnung
31.78	Ph-CH ₂	116.26	arom., C4, C10
35.01	Ph-CH ₂ -Ph	130.85	arom., C1, C13
45.38	N-CH ₃	131.29	arom., C13a, C14a
57.90	Ph-CH ₂ -CH ₂	140.55	arom., C4a, C9a
112.83	arom., C2, C12	154.53	arom., C3, C11

2-[2-(3-Methoxyphenyl)ethyl]-3,4-dihydroisochinolin-1(2H)-on (138)

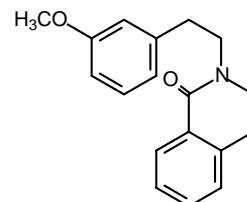
2,54 g (17 mmol) 2-(3-Methoxyphenyl)ethylamin werden mit 2,96 g (20 mmol) Isochroman-1-on (**54**) versetzt und 2 h bei 200°C in einem offenem Kolben unter Rühren erhitzt. Nach dem Abkühlen wird das schwarze Öl in 30 ml CH₂Cl₂ gelöst und mit 30 ml 2N-HCl-Lösung versetzt. Nach Extraktion wird die org. Phase im Vakuum abgedampft und das verbleibende Öl säulenchromatographisch über Kieselgel mit MeOH/CHCl₃ (50/50) gereinigt. Es entsteht ein klares Öl, welches nicht auskristallisiert.

Ausbeute: 0,7 g, 15 %, farbloses Öl, [Nagarajan, 1985]

R_F-Wert: 0,78 (EtOH)

IR (KBr, cm⁻¹): 3434, 2945, 1645, 1495, 1264

MG: C₁₈H₁₉NO₂ (281,35 g/mol)



Hochauflösende Masse:

gemessen: 282,1504

berechnet für C₁₈H₂₀NO₂: 282,1494

GC/MS: t_R = 21.05 min.

m/z (% rel. Int.) = 281 [M]⁺ (13.9), 266(0.03), 232(0.03), 207(0.1), 174(0.07), 160(100.0), 145(6.3), 134(41.6), 117(3.0), 103(5.6), 91(7.3), 77(6.1), 65(0.2), 51(1.5)

¹H-NMR (250 MHz, CDCl₃):

δ (ppm)	Multiplizität	Integration	Zuordnung
2.73-2.84	t (J = 6.6 Hz)	2H	Ph-CH ₂
2.84-2.95	t (J = 6.8 Hz)	2H	Ph-CH ₂ -CH ₂
3.28-3.40	t (J = 6.6 Hz)	2H	Ph-CH ₂
3.67-3.80	mc	2H	Ph-CH ₂ -CH ₂
3.71	s	3H	O-CH ₃
6.73-6.96	mc	3H	arom.
7.10-7.30	mc	2H	arom.
7.30-7.50	mc	2H	arom.
8.05-8.18	dd	1H	arom., H8

2-[2-(3-Methoxyphenyl)ethyl]-1,2,3,4-tetrahydroisochinolin-Hydrochlorid (139)

0,1 g (0,36 mmol) 2-[2-(3-Methoxyphenyl)ethyl]-3,4-dihydroisochinolin-1(2H)-on (**138**) werden in 20 ml trockenem THF gelöst, mit 27 mg (0,72 mmol) LiAlH₄ versetzt und bei 70°C 5 h gerührt. Nach dem Abkühlen wird vorsichtig in 30 ml Wasser aufgenommen, über Kieselgur filtriert und der Filtrerrückstand mit 50 ml CH₂Cl₂ gewaschen. Die org. Phase trennt man ab und extrahiert die wässrige Phase mit 3x30 ml CH₂Cl₂, vereinigt die org. Phasen, trocknet über MgSO₄, filtriert ab und entfernt das Lösungsmittel im Vakuum. Das verbleibende Öl wird in wenig Ether gelöst und mit etherischer HCl-Lösung versetzt. Der entstandene Niederschlag wird abfiltriert und aus Ether/Ethanol umkristallisiert.

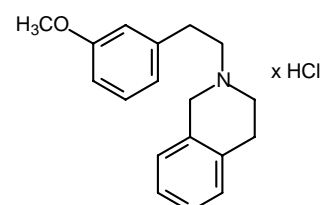
Ausbeute: 20 mg, 18 %, weißer Feststoff, [Nagarajan, 1985]

Schmelzpunkt: 196°C

R_F-Wert: 0,69 (EtOH) (Base)

IR (KBr, cm⁻¹): 3421, 2920, 2688, 2560, 1600, 1496, 1460, 1270

MG: C₁₈H₂₂ClNO (303,83 g/mol)



Elementaranalyse:

gemessen: C(%)= 70,08; H(%)= 6,98; N(%)= 4,28
 berechnet für $C_{18}H_{22}ClNO \times \frac{1}{4} H_2O$: C(%)= 70,12; H(%)= 7,36; N(%)= 4,54

GC/MS: t_R = 19.62 min.

m/z (% rel. Int.) = 267 [M]⁺⁺ (0.4), 222(0.02), 194(0.02), 178(0.04), 165(0.04), 146(100.0), 131(2.1), 117(6.3), 103(2.4), 91(4.5), 77(2.6), 65(1.2), 51(0.8)

¹H-NMR (250 MHz, [D₆]-DMSO):

δ (ppm)	Multiplizität	Integration	Zuordnung
3.00-3.28	m	4H	Ph-CH ₂ -CH ₂
3.30-3.52	m	4H	Ph-CH ₂ -CH ₂
3.78	s	3H	O-CH ₃
4.27-4.76	d	2H	Ph-CH ₂ -N
6.81-6.94	m	3H	arom.
7.18-7.33	m	5H	arom.

2-[2-(3-Chloro-4-methoxyphenyl)ethyl]-3,4-dihydroisochinolin-1(2H)-on (140)

Setzt man anstelle des geschützten Benzamids (**86**), das ungeschützte 2-(2-Hydroxyethyl)-N-[2-(3-chloro-4-methoxyphenyl)ethyl]benzamid (**85**) unter den gleichen Bedingungen um, wie dies bei der Synthese von 3-Chloro-2-methoxy-5,6,8,9-tetrahydro-13bH-dibenzo[a,h]chinolizin (**87**) beschrieben wird, führt dies in geringen Ausbeuten zum entsprechenden Lactam.

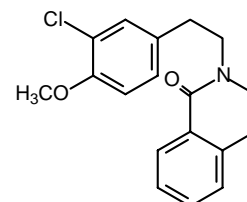
Ausbeute: 107 mg, 5 %, weißer Feststoff

Schmelzpunkt: 114°C

R_f-Wert: 0,67 (EtOH)

IR (KBr, cm⁻¹): 3460, 2945, 1638, 1505, 1260, 742

MG: C₁₈H₁₈ClNO₂ (315,80 g/mol)



Hochauflösende Masse:

gemessen: 338,0924

berechnet für C₁₈H₁₈ClNNO₂: 338,0924

GC/MS: t_R = 24.88 min.

m/z (% rel. Int.) = 315 [M]⁺⁺ (4.9), 296(0.02), 281(0.09), 248(0.3), 207(0.19), 194(0.08), 178(0.07), 168(77.2), 160(100.0), 145(7.6), 117(4.0), 103(7.7), 91(6.5), 77(12.9), 51(3.4)

¹H-NMR (250 MHz, CDCl₃):

δ (ppm)	Multiplizität	Integration	Zuordnung
2.85-3.00	mc	4H	Ph-CH ₂
3.37-3.50	t (J = 6.8 Hz)	2H	Ph-CH ₂ -CH ₂
3.71-3.83	t (J = 6.8 Hz)	2H	Ph-CH ₂ -CH ₂
3.88-3.98	s	3H	O-CH ₃
6.84-6.94	d (J = 8.2 Hz)	1H	arom., H5''
7.10-7.23	mc (J = 2.2, 8.2 Hz)	2H	arom., H5, H6''
7.27-7.52	mc (J = 1.5, 2.2, 7.5 Hz)	3H	arom., H6, H9, H2''
8.05-8.18	dd (J = 1.5, 7.5 Hz)	1H	arom., H8

2-[2-(3-Chloro-4-methoxyphenyl)ethyl]-1,2,3,4-tetrahydroisochinolin-Hydrochlorid (141)

0,1 g (0,34 mmol) 2-[2-(3-Chloro-4-methoxyphenyl)ethyl]-3,4-dihydroisochinolin-1(2*H*)-on (**140**) werden in 20 ml trockenem THF gelöst, mit 0,04 g (1,05 mmol) LiAlH₄ versetzt und bei 70°C 6 h gerührt. Nach dem Abkühlen wird vorsichtig in 30 ml Wasser aufgenommen, über Kieselgur filtriert und der Filtrerrückstand mit 50 ml CH₂Cl₂ gewaschen. Die org. Phase trennt man ab und extrahiert die wässrige Phase mit 3x30 ml CH₂Cl₂, vereinigt die org. Phasen, trocknet über MgSO₄, filtriert ab und entfernt das Lösungsmittel im Vakuum. Das verbleibende Öl wird in wenig Ether gelöst und mit etherischer HCl-Lösung versetzt. Der entstandene Niederschlag wird abfiltriert und aus Ether/Ethanol umkristallisiert.

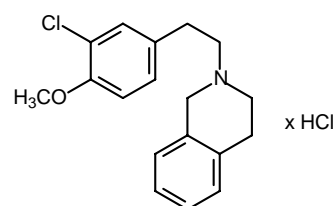
Ausbeute: 11 mg, 10 %, weißer Feststoff

Schmelzpunkt: 232°C

R_f-Wert: 0,67 (EtOH) (Base)

IR (KBr, cm⁻¹): 3425, 2945, 2572, 1650, 1510, 1285

MG: C₁₈H₂₁Cl₂NO (338,28 g/mol)



Hochauflösende Masse:

gemessen: 302,1320

berechnet für C₁₈H₂₁ClNO: 302,1312

GC/MS: t_R = 21.66 min.

m/z (% rel. Int.) = 301 [M]⁺ (0.09), 220(0.01), 196(0.03), 169(0.5), 155(1.5), 146(100.0), 131(1.9), 117(6.0), 103(2.1), 91(3.3), 77(3.7), 65(0.8), 51(1.1)

¹H-NMR (250 MHz, MeOD):

δ (ppm)	Multiplizität	Integration	Zuordnung
3.09-3.21	mc	2H	Ph-CH ₂
3.21-3.33	mc	2H	Ph-CH ₂ -CH ₂
3.46-3.60	mc	2H	Ph-CH ₂
3.60-3.79	brs	2H	Ph-CH ₂ -CH ₂
3.86-3.95	s	3H	O-CH ₃
4.45-4.63	s	2H	Ph-CH ₂ -N
7.05-7.13	d (J = 8.5 Hz)	1H	arom.
7.22-7.37	m	5H	arom.
7.41-7.45	d (J = 2.2 Hz)	1H	arom.

G.2 Experimenteller Teil, Radioligandbindungsstudien

Die im Folgenden beschriebenen Radioligandbindungsexperimente wurden von Herrn Dr. Thomas Wittig [Wittig, 2004] aus unserem Arbeitskreis etabliert und dankenswerterweise von Frau Bärbel Schmalwasser und Frau Petra Wiecha praktisch durchgeführt. Es wurden bei allen Bindungsstudien Ganzzeellsuspensionen verwendet, da so reproduzierbare Ergebnisse erzielt werden konnten.

G.2.1 Allgemeine Angaben zu Materialien und Geräten

G.2.1.1 Eingesetzte Zelllinien

Als Zelllinien kamen HEK (Human Embryonic Kidney)- und CHO (Chinese Hamster Ovary)-Zellen zum Einsatz, die humane, klonierte Dopamin-Rezeptoren exprimierten. Somit konnte eine Interaktion der Testsubstanzen mit anderen Bindungsstellen als den Erwünschten, wie z.B. andere G-Protein gekoppelte Rezeptoren, Ionenkanäle oder eine gleichzeitige Wechselwirkung mit weiteren Subtypen der Dopamin-Rezeptorfamilie (D₁-D₅), vermieden werden.

Die einzelnen stabil transfizierten Zelllinien wurden von folgenden Personen dankenswerterweise zur Verfügung gestellt:

- HEK-D₁ und HEK-D₅
Frau Dr. Barbara Höfgen [Höfgen, 2002] sowie Herr Dr. Matthias Kassack [Kassack, 2002] aus unserem Arbeitskreis gelang es, durch Subklonierung der jeweiligen humanen cDNA in einen Expressionsvektor, anschließender Transfektion der Wirtszellen mit dem Plasmid und klonaler Selektion obige Zelllinien zu erhalten.
 - CHO-D_{2L}
Dr. Shine, Darlinghurst, Australien
 - CHO-D₃
Prof. Stark, Frankfurt
 - CHO-D_{4.4}
Dr. van Tol, Toronto, Kanada
-

Die Charakterisierung der eingesetzten Zelllinien erfolgte durch Herrn Dr. Thomas Wittig [Wittig, 2004] aus unserem Arbeitskreis und ergab folgende Ergebnisse:

Zelllinien	Proteinkonzentration* [mg/ml]	B_{\max} [fmol/mg Protein]	K_D^{**} [nM]	Radioligand
HEK-D ₁	1,26	3139	0,19	[³ H]SCH 23390
CHO-D _{2L}	0,37	4261	0,77	[³ H]Spiperon
CHO-D ₃	0,13	14474	3,01	[³ H]Spiperon
CHO-D _{4.4}	0,94	6043	0,21	[³ H]Spiperon
HEK-D ₅	1,54	6087	0,11	[³ H]SCH 23390

Tab. G.1: Experimentell ermittelte Proteinkonzentrationen der eingesetzten Zelllinien, sowie B_{\max} - und K_D -Werte der Radioliganden ([³H]SCH 23390 an D₁- und D₅-Rezeptoren, [³H]Spiperon an D_{2L}-, D₃- und D_{4.4}-Rezeptoren)

* Die Bestimmung der Proteinkonzentration erfolgte dabei nach den Methoden von Lowry et al. [Lowry, 1951] und Bradford [Bradford, 1976] über UV-spektroskopische Auswertung des jeweiligen Absorptionsmaximums. Hierzu wurde der blaue Säurefarbstoff Coomassie-Brilliantblau G-250 verwendet, der durch Komplexbildung mit den Proteinen eine Verschiebung des Absorptionsmaximums von 465 auf 595 bewirkt. Als Standard wurde bovines Serumalbumin (BSA) eingesetzt.

** Die Bestimmung der K_D -Werte der einzelnen Zelllinien erfolgte mit Hilfe der Zwei-Punkte-Methode, die in Kapitel C.1 näher erläutert wurde. Hierzu wurde sowohl die Gesamtbindung als auch die unspezifische Bindung des Radioliganden bestimmt, indem man jeweils eine niedrige und eine hohe Konzentration des Radioliganden einsetzte. Die verwendeten Versuchsansätze werden in Tab G.3 vorgestellt.

Die unspezifische Bindung wurde durch Einsatz von Fluphenazin in 10 μ molarer Endkonzentration (für D₁- und D₅-Rezeptor exprimierende Zelllinien) bzw. Haloperidol in 1 μ molarer Endkonzentration (für D_{2L}-, D₃- und D_{4.4}-Rezeptor exprimierende Zelllinien) bestimmt. Entsprechend wurden für die D₁- und D₅-Rezeptor exprimierenden Zelllinien [³H]SCH 23390 als Radioligand in einer Endkonzentration von 0,2 und 4 nM und für die D_{2L}-, D₃- und D_{4.4}-Rezeptor exprimierende Zelllinien [³H]Spiperon in einer Endkonzentration von 0,1 und 2 nM verwendet.

G.2.1.2 Radioliganden und Testsubstanzen

Als Radioligand zur Affinitätsbestimmung der D₁-Rezeptorfamilie (D₁, D₅) wurde das Benzazepin [³H]SCH 23390 (s. Abb. G.1) eingesetzt. Die spezifische Aktivität betrug je nach Charge 71-83 Ci/mmol.

Das Butyrophenon [³H]Spiperon (s. Abb. G.1) wurde entsprechend für die D₂-Rezeptorfamilie (D_{2L}, D₃, D_{4.4}) mit spezifischen Aktivitäten zwischen 97 und 106 Ci/mmol verwendet.

Beide Radioliganden wurden von der Firma Amersham Biosciences (Little Chalfont, UK) bezogen und werden standardmäßig in der Literatur für Bindungsexperimente verwendet [Bourne, 2001] [Malmberg, 1996] [Sedvall, 1995]. Die antagonistisch wirkenden Radioliganden weisen für die jeweiligen Rezeptorsubtypen sowohl eine hohe Affinität als auch eine ausreichende Selektivität auf.

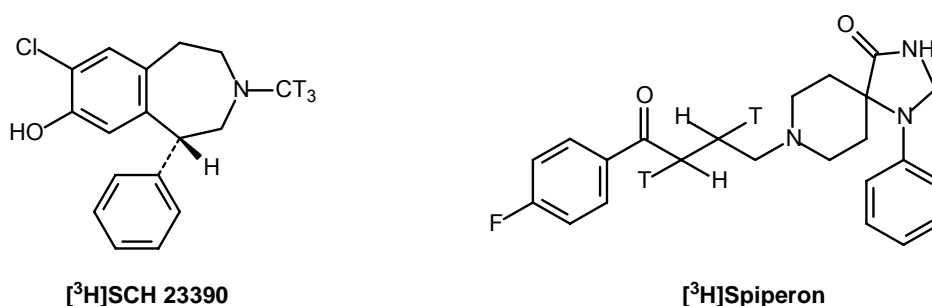


Abb. G.1: Verwendete Radioliganden ([³H]SCH 23390 und [³H]Spiperon)

Als Testsubstanzen wurden die in dieser Arbeit (Synthesen siehe Kapitel B.2 bzw. G.1.2) vorgestellten Verbindungen verwendet. Weitere Substanzen, die zu Vergleichszwecken benötigt wurden, werden an entsprechender Stelle genannt.

G.2.1.3 Reagenzien und Puffer

Um Vergleiche der zu messenden Bindungsdaten mit literaturbekannten Werten gewährleisten zu können, wurde als Messpuffer der bei Mierau *et al.* [Mierau, 1995] beschriebene Puffer ausgewählt, der sich wie folgt zusammensetzt:

50 mM Tris(hydroxymethyl)aminomethanhydrochlorid (TRIS-HCl) (Sigma-Aldrich, Taufkirchen) und 5 mM Magnesiumchlorid (VWR international, Darmstadt) in Aqua dest., eingestellt auf pH 7,4 mit 0,1 N HCl (Fisher Scientific, Schwerte).

Als isotoner Waschpuffer wurde ein sogenannter PBS Puffer (Phosphate buffered saline) folgender Zusammensetzung verwendet:

137 mM Natriumchlorid, 2,7 mM Kaliumchlorid, 8,1 mM Natriumhydrogenphosphat und 1,4 mM Kaliumhydrogenphosphat (alle Chemikalien von VWR international, Darmstadt) in Aqua dest. gelöst und mit 0,1 N HCl (Fisher Scientific, Schwerte) auf pH 7,4 eingestellt.

Die genau eingewogenen Testsubstanzen wurden in DMSO gelöst, so dass ca. 1ml einer 0,01 molaren Stammlösung erhalten werden konnte. Aus dieser Stammlösung wurde eine wässrige 10µM Lösung hergestellt, die zum Erstellen der Verdünnungsreihe diente.

G.2.2 Versuchsdurchführung

G.2.2.1 Lagerung und Vermehrung der Zellen

Alle Arbeiten an lebenden Zellen wurden unter aseptischen Bedingungen an einer Werkbank mit laminaren Luftstrom durchgeführt (Fa. Holten Allerød, DK).

1 ml der jeweils einen Dopamin-Subtyp exprimierenden, eingefrorenen, in Cryoröhrchen (Greiner bio-one, Frickenhausen) gelagerten Zellsuspension wurde bei 37°C im Wasserbad aufgetaut. Anschließend wurde eine Gewebekulturflasche mit Filterdrehverschluss und einer Bodenfläche von 175 cm² (Greiner bio-one, Frickenhausen) mit 20 ml, auf 37°C vorgewärmten Nährmedium (Tab. G.2) beschickt und mit der aufgetauten Zellsuspension versetzt. In einer humidifizierten Atmosphäre mit 5%igen CO₂-Anteil in der Luft (Begasungsbrutschrank CB 150, Binder, Tuttlingen) wurden die Zellen bei 37°C inkubiert und waren in der Regel innerhalb eines Zeitraumes von 2 bis 4 Tagen zur Konfluenz gewachsen.

Zusammensetzung	Volumen [ml]	Endkonzentration
DME/F-12 (1:1)* (für HEK-Zellen); Nutrient mixture F-12 Ham (CHO)	500	
fetales Kälberserum (FKS)	50	10%
Penicillin/Streptomycin	5	100 Einheiten/ml; 0,1 mg/ml
L-Glutamin-Lsg.	2,5	1mM
Geniticindisulfat	1	0,2 mg/ml

Tab. G.2: Nährmedium für HEK- und CHO-Zellen (alle Bestandteile von Firma Sigma-Aldrich, Taufkirchen)

* DME/F-12 (1:1): Dulbecco's modified Eagles Medium Nutrient mixture F-12 Ham

Bei vorliegender Konfluenz von 85-90% wurde zunächst überstehendes Nährmedium mit einer Vakuumpumpe abgesaugt (Vakuum-Sicherheits-Absaugsystem AF 202, HCL, Bovenden + Vacuu-Hand-Control VHC, Vacuubrand) und die Zellen mit 5 ml einer Trypsin/EDTA-Lösung (0,05/0,02% [m/V]) versetzt. So konnten durch Klopfen auf die Seitenwand der Kulturflasche die Zellen gelöst werden. Dies gelang teilweise auch ohne Zugabe obiger Trypsin/EDTA-Lösung. Die Zellsuspension wurde anschließend nach Zugabe von 3 ml Nährmedium in ein steriles Zentrifugenröhrchen (Polypropylen, Greiner bio-one, Frickenhausen) überführt und 5 min. bei 4°C und 1800 Upm zentrifugiert (Zentrifuge Allegra 64R, Beckman Coulter, CA, USA). Nach Absaugen des Nährmediums wurde das verbliebene Zellpellet in frischem Nährmedium resuspendiert und bei Weiterverarbeitung auf weitere, in der Regel 2-4, Kulturflaschen aufgeteilt, die vorher mit je 20 ml Nährmedium versetzt worden waren.

Zur Einlagerung der Zellen wurde das in frischem Nährmedium resuspendierte Zellpellet dagegen mit 10% (m/V) Dimethylsulfoxid versetzt, um die Bildung von größeren Kristallen während des Gefriervorgangs zu vermeiden. Pro Kulturflasche wurden vier Aliquota von 1 ml Zellsuspension auf Cryoröhrchen verteilt und bei -80°C „vorgefroren“. Nach 24 h wurden die Röhrchen dann zur weiteren Lagerung in flüssigem Stickstoff überführt, wo sie je nach Bedarf wieder ausgefroren werden konnten.

G.2.2.2 Herstellung der Ganzzellsuspension

Um mit obigen Zellen Bindungsversuche durchführen zu können, musste unmittelbar vor jedem Experiment eine Ganzzellsuspension hergestellt werden, da sie aufgrund ihrer Zusammensetzung nicht gelagert werden konnte.

Das in Kapitel G.2.2.1 beschriebene Zellpellet, welches nach Absaugen der Trypsin/EDTA-Lösung erhalten werden konnte, wurde in 20 ml PBS-Puffer (s. Kap. G.2.1.3) resuspendiert und unter obigen Bedingungen zentrifugiert. Nach Wiederholung dieses Waschvorgangs wurde das Zellpellet in 12 ml Messpuffer (s. Kap. G.2.1.3) aufgenommen, resuspendiert und diese Suspension direkt für einen Bindungsversuch verwendet. In der Regel wurde hierfür eine T-175-Kulturflasche pro Versuch benötigt.

G.2.2.3 Durchführung der Bindungsexperimente

Die Testsubstanzen für die Radioligandbindungsversuche wurden auf zwei Arten vermessen. Um das Ausmaß der Affinität abschätzen zu können, wurde zuerst, soweit nötig, ein Schnellscreening durchgeführt, bei dem die Verdrängung des Radioliganden durch eine 10µmolare Lösung der jeweiligen Testsubstanz, die Gesamt- und die unspezifische Bindung

bestimmt wurde. Dadurch gelang es die prozentuale Abnahme der rezeptorgebundenen Radioaktivität zu berechnen, so dass in der Regel bei einem Wert über 70% ein K_i -Wert bestimmt wurde. Dies geschah durch Erstellen einer Verdünnungsreihe der jeweiligen Testsubstanz von 10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-6} , 10^{-7} , 10^{-8} , 10^{-9} und 10^{-10} molaren Lösungen. Je nach Affinität wurde die Verdünnungsreihe durch niedrigere oder höhere Konzentrationen ergänzt. Durch Zugabe des Messpuffers statt der Testsubstanzlösung konnte die Gesamtbindung des Radioliganden ermittelt werden. Die Bestimmung der unspezifischen Bindung des Radioliganden gelang mit Fluphenazin in einer Endkonzentration von $10\mu\text{M}$ für die D_1 -Rezeptorfamilie und mit Haloperidol in einer Endkonzentration von $1\mu\text{M}$ für die D_2 -Rezeptorfamilie. So war eine vollständige Besetzung der Bindungsstellen gewährleistet. Alle K_i -Werte wurden, soweit nicht anders beschrieben, im Triplikat und zweifach mit zwei voneinander unabhängigen Verdünnungsreihen bestimmt.

Die Bindungsexperimente erfolgten in 96er Mikrotiterplatten (Deep well plates, Greiner bio-one, Frickenhausen), mit einem Volumen von 1,2 ml je Vertiefung. Dabei wurde ein Versuchsansatz folgender Größe verwendet:

Zusammensetzung	Volumen [μl]	Endkonzentration
Messpuffer (s. Kap. G.2.1.3)	345	
Testsubstanz in Aqua dest. bzw. Messpuffer zur Bestimmung der Gesamtbindung bzw. Inhibitor zur Bestimmung der unspez. Bindung	55	s. o.
Ganzzell suspension	100	variabel*
Radioligand in Aqua dest. [^3H]SCH 23390 [^3H]Spiperon	50	~ 0,25 nM ~ 0,35 nM

Tab. G.3: Versuchsansatz zur Durchführung der Radioligandbindungsexperimente

* Die Konzentration der Zellsuspension darf nur so hoch sein, das max. 10% des Radioliganden gebunden werden kann.

Die Bestandteile wurden in oben angegebener Reihenfolge in die Reaktionsgefäße pipettiert, die Mikrotiterplatte mit Parafilm abgedeckt und anschließend auf einem Minischüttler (Ika Labortechnik, Staufen) ca. 20 Sekunden homogenisiert. Die Inkubation erfolgte mit Hilfe eines beheizbaren Schüttlers (Thermocycler comfort, Eppendorf, Wesseling) bei 27 °C für 90 min., um eine Gleichgewichtseinstellung des Radioliganden am Rezeptor zu gewährleisten. Anschließend wurde die Suspension in den Wells der Platte nochmals für 90 sek. auf dem Minischüttler homogenisiert und mittels des Harvesters 96[®] (Mach III, Tomtec, CT, USA) mit einem voreingestellten, automatischen Programm (s. [Wittig, 2004]) bei 3 psi über eine Filtermatte (Filtermat A, PerkinElmer Life Sciences) vakuumfiltriert. Die Filtermatte wurde zuvor 2 h zur Minderung der unspezifischen Filterbindung in eine 0,25%ige Polyethyleniminlösung (Sigma-Aldrich) eingelegt.

Die Filtermatte wurde danach in einem Mikrowellengerät (MW 21, Clatronic, Kempen) bei 400 Watt 3 min. getrocknet, in eine Zählkassette (Omni filter plates, PerkinElmer Life Sciences) überführt und auf jedes Feld der Matte 50 µl Microscint 20[®] Szintillationscocktail (PerkinElmer Life Sciences) pipettiert. Die Messung der membrangebundenen Radioaktivität erfolgte mit Hilfe des Top Count NXT[®] Microplate Scintillation Counter (Packard, Ct, USA). Gemessen wurden die Zerfälle pro Minute (dpm), bei einer Zähldauer von 3 min. pro Gefäß.

Als Kontrollwert wurde bei jedem Versuch die Radioligandkonzentration bestimmt, in dem die gleiche Menge Radioligand (s. Tab. G.3) in ein Szintillationsgefäß (20 ml, Ratiolab, Dreieich) unter Zusatz von 5 ml Rotiszint[®] eco plus Szintillationscocktail (Roth, Karlsruhe) pipettiert und in einem Flüssigszintillationszähler (LS 6000 SC, Beckman Coulter, CA, USA) nach 60minütiger Wartezeit vermessen wurde. Durch die so ermittelte Radioligandkonzentration konnten die K_i-Werte berechnet werden.

Die Messergebnisse der Dreifachbestimmungen wurden mit der Software Graph Pad Prism[®], Version 4.0 ausgewertet. Die Daten wurden halblogarithmisch im Modus „one site competition“ anhand nicht-linearer Regression dargestellt. Die Berechnung der Mittelwerte, der mittleren Abweichung vom Mittelwert und der Standardabweichungen der einzelnen Experimente erfolgte mit Hilfe der Software Microsoft Excel[®].

G.3 Experimenteller Teil, Calcium-Assay

Der im folgenden beschriebene Calcium-Assay wurde von Frau Dr. Barbara Höfgen [Höfgen, 2002] aus unserem Arbeitskreis etabliert. Dankenswerterweise übernahm Frau Heidi Traber die Durchführung sämtlicher Messungen und passte den Assay an die gegebenen Bedingungen an.

G.3.1 Allgemeine Angaben zu Materialien und Geräten

G.3.1.1 Eingesetzte Zelllinien

Als Zelllinien kamen, wie in Kap. G.2.1.1 beschrieben, HEK (Human Embryonic Kidney)-Zellen zum Einsatz, die humane, klonierte Dopamin-Rezeptoren exprimierten. Die einzelnen stabil transfizierten Zelllinien wurden von folgenden Personen dankenswerterweise zur Verfügung gestellt:

- HEK-D₁, HEK-D_{2L} und HEK-D₅

Frau Dr. Barbara Höfgen [Höfgen, 2002] sowie Herr Dr. Matthias Kassack [Kassack, 2002] aus unserem Arbeitskreis gelang es, durch Subklonierung der jeweiligen humanen cDNA in einen Expressionsvektor, anschließender Transfektion der Wirtszellen mit dem Plasmid und klonaler Selektion obige Zelllinien zu erhalten.

Die Charakterisierung der eingesetzten Zelllinien erfolgte durch Frau Dr. Barbara Höfgen [Höfgen, 2002] aus unserem Arbeitskreis und ergab folgende Ergebnisse:

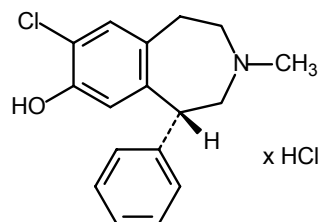
Zelllinien	Proteinkonzentration [µg/ml]	B _{max} [fmol/mg Protein]	K _D * [nM]
HEK-D ₁	70,3	8184	2,2
HEK-D _{2L}	57,6	2022	2,8
HEK-D ₅	133	7021	1,5

Tab. G.4: Experimentell ermittelte Proteinkonzentrationen der eingesetzten Zelllinien, sowie B_{max}- und K_D-Werte der Radioliganden ([³H]SCH 23390 an D₁- und D₅-Rezeptoren, [³H]Spiperon an D_{2L}-Rezeptoren)

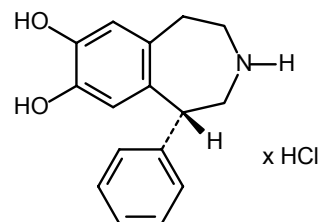
* Die Bestimmung der K_D-Werte erfolgte durch Frau Heidi Traber

G.3.1.2 Standard-Agonisten bzw. -Antagonisten und Testsubstanzen

Als Agonist für die D₁-Rezeptorfamilie (D₁, D₅) wurde das Benzazepin SKF 38393-HCl eingesetzt, während SCH 23390-HCl als Antagonist verwendet wurde.



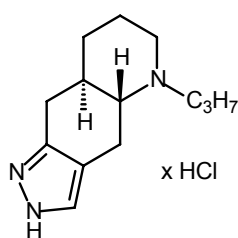
SCH 23390



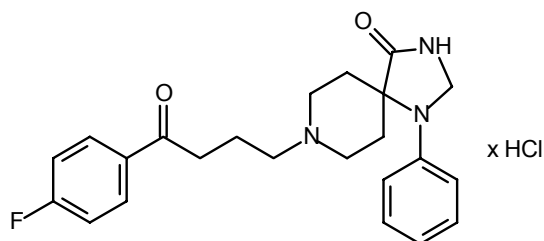
SKF 38393

Abb. G.2: Standard-Agonisten bzw. -Antagonisten der D₁-Rezeptorfamilie

Als Agonist für die D₂-Rezeptorfamilie (D_{2L}, D₃, D_{4.4}) wurde das Chinolin Quinpirol-HCl eingesetzt, während Spiperon-HCl als Antagonist verwendet wurde.



Quinpirol



Spiperon

Abb. G.3: Standard-Agonisten bzw. -Antagonisten der D₂-Rezeptorfamilie

Höfgen [Höfgen, 2002] konnte zeigen, dass durch Wahl dieser beiden Standard-Agonisten ein reproduzierbares Dosis-abhängiges Ca²⁺-Fluoreszenz-Signal an den Dopamin-Rezeptor-Subtypen erhalten werden konnte. Ebenso führten die Standard-Antagonisten bei steigenden Konzentrationen zu der erwünschten Abnahme des Ca²⁺-Fluoreszenz-Signals durch Injektion des entsprechenden Agonisten. Die ermittelten K_i-Werte zeigten gute Übereinstimmung mit den aus der Literatur erhaltenen Daten bezüglich der Radioligandbindungsstudien [Seeman, 1994] und anderer funktioneller Experimente [Hilditch, 1985].

Als Testsubstanzen wurden die in dieser Arbeit (Synthesen siehe Kapitel B.2 bzw. G.1.2) vorgestellten Verbindungen verwendet. Weitere Substanzen, die zu Vergleichszwecken benötigt wurden, werden an entsprechender Stelle genannt.

G.3.1.3 Reagenzien und Puffer

Als Stammlösungen der Agonisten bzw. Antagonisten wurden 10 mmolare Lösungen in Aqua dest., bzw. DMSO für Spiperon, hergestellt. Verdünnungen erfolgten in Krebs-HEPES-Puffer aus diesen Stammlösungen.

Der verwendete Krebs-HEPES-Puffer war wie folgt zusammengesetzt:

118,6 mM	Natriumchlorid
4,7 mM	Kaliumchlorid
1,2 mM	Magnesiumsulfat
1,2 mM	Kaliumhydrogenphosphat
4,2 mM	Natriumhydrogencarbonat
11,7 mM	D-Glucose
1,3 mM	Calciumchlorid
10 mM	HEPES

Die Einstellung des pH-Wertes auf 7,4 erfolgte mit 1-N NaOH-Lösung. Alle Bestandteile wurden von Sigma-Aldrich, Taufkirchen bezogen.

Die Agonist- sowie die Antagonist-Puffer-Lösungen wurden in Krebs-HEPES-Puffer hergestellt. Hierbei wurde die jeweils höchste Konzentration aus der Agonist- bzw. Antagonist-Stammlösung hergestellt, aus der dann die jeweiligen Verdünnungsreihen erstellt wurden.

Oregon Green[®] 488 BAPTA-1/AM: Zellfarbstoff, s. Kap. C.2

Pluronic F-127: anionisches Tensid, welches die Wasserlöslichkeit des Farbstoffs und dessen Aufnahme in die Zellen erhöht [*Haugland, 2001*].

Die genau eingewogenen Testsubstanzen wurden in DMSO gelöst, so dass ca. 1 ml einer 0,01 molaren Stammlösung erhalten werden konnte. Aus dieser Stammlösung wurde eine 100µM Lösung hergestellt, bestehend aus Testsubstanz gelöst in Krebs-HEPES-Puffer, die zum Erstellen der Verdünnungsreihe diente.

G.3.2 Versuchsdurchführung

G.3.2.1 Lagerung und Vermehrung der Zellen

Inkulturnahme, Vermehrung und Lagerung der verwendeten Zellen entspricht dem in Kapitel G.2.2.1 beschriebenen Verfahren zur Durchführung der Radioligandbindungsexperimente.

G.3.2.2 Herstellung der Ganzzellsuspension

Um mit obigen Zellen Bindungsversuche durchführen zu können, musste unmittelbar vor jedem Experiment eine Ganzzellsuspension hergestellt werden, da sie aufgrund ihrer Zusammensetzung nicht gelagert werden konnte.

Dazu wurde der in Kapitel G.2.2.1 beschriebene Zellrasen nicht mit Trypsin/EDTA-Lösung vom Boden der Kulturflasche abgelöst, sondern vom Nährmedium befreit und anschließend mit 10 ml des auf 37°C vorgewärmten Krebs-HEPES-Puffer in der Weise versetzt, dass der Puffer zuerst auf die schmale Seite der Kulturflasche pipettiert wurde, um anschließend vorsichtig über den Zellrasen geschwenkt werden zu können. Um restliches Nährmedium zu entfernen, wurde die überstehende Flüssigkeit abgesaugt und der Waschvorgang mit weiteren 10 ml Krebs-HEPES-Puffer wiederholt. Anschließend wurde der Zellrasen nochmals mit 5 ml Krebs-HEPES-Puffer versetzt und eine Mischung aus 3 µl einer 0,5 mM Oregon Green® 488 BAPTA-1/AM-Lösung (in DMSO) (s. Kap. C.2), sowie 3 µl einer 20%igen [m/V] Lösung von Pluronic F-127 (in DMSO) (Sigma-Aldrich), beides gelöst in 1 ml Krebs-HEPES-Puffer, zugegeben. Nach vollständiger Benetzung wurden die Zellen in der Kulturflasche 35 min. in einer humidifizierten Atmosphäre mit 5%igen CO₂-Anteil in der Luft (Begasungsbrutschrank CB 150, Binder, Tuttlingen) bei 37°C angefärbt. Nach leichtem Klopfen auf die Seitenwand der Kulturflasche konnte der Zellrasen abgelöst und für weitere 10 min. inkubiert werden. Die gleichmäßige Anfärbung der Zellen wurde durch ein Fluoreszenz-Mikroskop (Axiovert 25, Carl Zeiss, Jena) überprüft. Dabei zeigte sich, dass es sich bei den noch an der Kulturflaschenwand anhaftende Zellen um nicht intakte und damit auch nicht anfärbbare Zellen handelte (s. Kap. C.2). Diese wurden verworfen. Die gelösten Zellen wurden mit 5 ml Krebs-HEPES-Puffer vom Kulturflaschenboden gespült und die Zellsuspension auf 10 1,5 ml-Eppendorf-Reaktionsgefäße gleichmäßig verteilt. Nach Zentrifugation (Centrifuge 5417 C, Eppendorf, Hamburg) bei ca. 10000 Upm für 10 sek. (sog. „short spin“) wurde der Überstand in den einzelnen Eppendorf-Gefäßen abgesaugt, jeweils 5 verbliebene Zellpellets in einem Eppendorf-Gefäß vereinigt und mit je 1 ml Krebs-HEPES-Puffer resuspendiert. Es wurde erneut zentrifugiert (s. o.), der Überstand in beiden Gefäßen abgesaugt, die Zellpellets vereinigt und wieder in 1 ml Krebs-HEPES-Puffer resuspendiert.

Diese Zellsuspension wurde in ein 50 ml-Zentrifugenröhrchen (Polypropylen, Greiner bio-one, Frickenhausen) überführt, welches vorher mit 15 bzw. 18 ml* Krebs-HEPES-Puffer beschickt wurde, und auf einem Minischüttler (Ika Labortechnik, Staufen) homogenisiert. 160 bzw. 180 μ l* der in Puffer suspendierten Zellen wurden mit einer Mehrkanal-Mikroliter-Pipette auf die 96 Wells der klaren Mikrotiterplatte (Greiner bio-one, Frickenhausen) verteilt und 30 min. stehen gelassen. Je nachdem, ob ein Agonist oder ein Antagonist bestimmt werden sollte, wurde die so befüllte Mikrotiterplatte für die Calcium-Fluoreszenz-Messung weiter präpariert (s. G.3.2.3).

* Zur Messung eines Antagonisten wurden 15 ml bzw. 160 μ l verwendet, während die Messung eines Agonisten mit 18 ml bzw. 180 μ l erfolgte.

G.3.2.3 Durchführung der Calcium-Fluoreszenz-Messung

Die Calcium-Fluoreszenz-Messung erfolgte in klaren 96er Mikrotiterplatten (Greiner bio-one, Frickenhausen) mit Hilfe des NOVOstar Microplate-Readers (BMG Labtechnologies, Offenburg). Dabei wurden die Testsubstanzen auf antagonistische und agonistische Aktivität hin überprüft. Dies erfolgte durch zwei unterschiedlichen Methoden.

G.3.2.3.1 Messung der antagonistischen Aktivität

Die unter G.3.2.2 beschriebene, mit Zellsuspension beschickte Mikrotiterplatte wurde nach der halbstündigen Ruhephase je Well mit Testsubstanz-Puffer-Lösung steigender Konzentration versetzt. Dies geschah durch Erstellen einer Verdünnungsreihe der jeweiligen Testsubstanz von 10^{-3} - 10^{-9} molaren Lösungen (Endkonzentration: 10fach geringer). Je nach Affinität wurde die Verdünnungsreihe durch niedrigere oder höhere Konzentrationen ergänzt. Durch Zugabe des Krebs-HEPES-Puffer statt der Testsubstanzlösung konnte der reine Agonist-Wert ermittelt werden.

Als Versuchsansatz wurde folgende Größe verwendet:

Zusammensetzung	Volumen [μ l]	eingesetzte Konzentration /Endkonzentration
Zellsuspension	160	variabel
Testsubstanz-Puffer-Lösung bzw. Krebs-HEPES-Puffer	20	s. o.
Standard-Agonist-Puffer-Lösung	20	$10^{-6}/10^{-7}$ mol/l

Tab. G.5: Versuchsansatz zur Messung der antagonistischen Aktivität

Alle K_i -Werte wurden, soweit nicht anders beschrieben, als Sechsfachbestimmung, mindestens zweifach mit zwei voneinander unabhängigen Verdünnungsreihen bestimmt.

Nach dem Pipettieren der Testsubstanz-Puffer-Lösung wurde die Mikrotiterplatte weitere 30 min. stehen gelassen und anschließend in den Microplate Reader überführt. Durch ein vorher eingestelltes, automatisiertes Verfahren (s. Kap. G.3.2.3.3) wurde unmittelbar vor jeder Einzelmessung 20 μ l der entsprechenden Standard-Agonist-Puffer-Lösung bzw. Krebs-HEPES-Puffer als Blank-Wert in das zu vermessende Well injiziert und die abfallende Fluoreszenz gemessen.

G.3.2.3.2 Messung der agonistischen Aktivität

Die unter G.3.2.2 beschriebene, mit Zellsuspension beschickte Mikrotiterplatte wurde nach der halbstündigen Ruhephase unmittelbar vor jeder Einzelmessung mit Testsubstanz-Puffer-Lösung je Well in steigender Konzentration versetzt. Dies geschah durch Erstellen einer Verdünnungsreihe der jeweiligen Testsubstanz von 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-6} , 10^{-7} , 10^{-8} und 10^{-9} molaren Lösungen (Endkonzentration: 10fach geringer). Je nach Affinität wurde die Verdünnungsreihe durch niedrigere oder höhere Konzentrationen ergänzt.

Durch Zugabe des Krebs-HEPES-Puffer statt der Testsubstanzlösung konnte der Blank-Wert ermittelt werden.

Als Versuchsansatz wurde folgende Größe verwendet:

Zusammensetzung	Volumen [μ l]	eingesetzte Konzentration /Endkonzentration
Zellsuspension	180	variabel
Testsubstanz-Puffer-Lösung bzw. Krebs-HEPES-Puffer	20	s. o.

Tab. G.6: Versuchsansatz zur Messung der agonistischen Aktivität

Alle EC_{50} -Werte wurden, soweit nicht anders beschrieben, als Sechsfachbestimmung, mindestens zweifach mit zwei voneinander unabhängigen Verdünnungsreihen bestimmt.

Durch ein vorher eingestelltes, automatisiertes Verfahren (s. Kap. G.3.2.3.4) wurde im Microplate-Reader die steigende Fluoreszenz gemessen.

Konnte eine agonistische Aktivität an den Dopamin-Rezeptor-exprimierenden Zellen festgestellt werden, wurde der Versuch zusätzlich an den entsprechenden Wildtypen der

HEK-Zellen durchgeführt, um eine Beteiligung der jeweiligen Dopaminrezeptor-Subtypen an der Ca^{2+} -Ausschüttung bestätigen bzw. ausschliessen zu können. Hierbei wurde auf Zusatz des anionischen Tensids Pluronic F-127 (s. Kap. G.3.2.2) verzichtet, da es sonst zu einer Schädigung der Wildtypzellen kam.

G.3.2.3.3 Auswertung der Messergebnisse

Die Messergebnisse der Sechsfachbestimmungen wurden mit der Software Graph Pad Prism[®], Version 4.0 ausgewertet. Die Daten wurden halblogarithmisch im Modus „one site competition“ anhand nicht-linearer Regression dargestellt.

Die Berechnung der Mittelwerte, der mittleren Abweichung vom Mittelwert und der Standardabweichungen der einzelnen Experimente erfolgte mit Hilfe der Software Microsoft Excel[®].

G.3.2.3.4 Eingestellte Parameter des NOVostar Microplate-Readers

Sämtliche Messungen mit dem NOVostar Microplate-Reader wurden im „Well Mode“ durchgeführt. Im Folgenden werden anhand der einzelnen Fenster im „Well Mode“ die wichtigen, eingestellten Parameter vorgestellt:

The screenshot shows the 'Well Mode [Fluorescence]' window with the following settings:

- Test name:** CA-ASSAY AUS EPP 2
- Measurement plate:** GREINER 655101
- Reagent plate:** EMPTY
- General Settings:**
 - Positioning delay (0.1...1.0 s): 0.5
 - No. of kinetic windows (1...4): 2
- Kinetic Window 1:**
 - Measurement start time (0...1200 s): 0.0
 - No. of intervals (1...250): 2
 - No. of flashes per well and interval (0...200): 10
 - Interval time (0.02...100 s): 0.4
 - End time of kinetic window 1 (s): 0.8
- Filters and Integration:**
 - ☒ Fluorescence Intensity ☐ Time-resolved Fluorescence
 - No. of multichromatics (1...8): 1
 - Excitation filter: 585
 - Emission filter: 520
 - Gain (0...4095): 2400
 - Integration:
 - Start (0...1510 µs): 0
 - Time (10...1510 µs): 12
- Calculation Range:**
 - Start (1...10): 1
 - Stop (1...10): 1
- Min. interval time 1:** [empty] **Total meas. time/well:** 31.6s
- Check timing:** [empty] **Total measurement time:** [empty]

Buttons at the bottom: OK, Cancel, Help.

Abb. G.4: „Basic Parameters“ im „Well Mode“

Well Mode (Fluorescence)

Basic Parameters | **Kinetic Windows** | Layout | Concentrations / Volumes / Shaking | Injection Timing | Timing Overview

Number	Start time (0...1200 s)	No. of intervals (0...250)	No. of flashes (0...200)	Interval time (0.02...100 s)	End time (s)	Minimum interval time
1	0	2	10	0.40	0.8	
2	7.6	60	10	0.40	31.6	
3						
4						

Total meas. time/well: 22 s

Total measurement time: 27m39s

Abb. G.5: „Kinetic Windows“ im „Well Mode“

Plate Mode (Fluorescence)

Basic Parameters | Layout | Concentrations / Volumes / Shaking | Injection / Timing

Content:

Groups: ☐ On

Index: Start value: 1
☐ Constant ☒ Increase

Replicates: Number: 1
☒ Horizontal ☐ Vertical

Reading direction: ☒ bidirectional ☐ unidirectional

	96	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	P	X10	X11	X12	X13	X14	X15	X16	X17	X18	X19	X20	
B	P	X10	X11	X12	X13	X14	X15	X16	X17	X18	X19	X20	
C	P	X10	X11	X12	X13	X14	X15	X16	X17	X18	X19	X20	
D	P	X10	X11	X12	X13	X14	X15	X16	X17	X18	X19	X20	
E	P	X10	X11	X12	X13	X14	X15	X16	X17	X18	X19	X20	
F	P	X10	X11	X12	X13	X14	X15	X16	X17	X18	X19	X20	
G	P	B	B	B	B								
H	P	B	B	B	B								

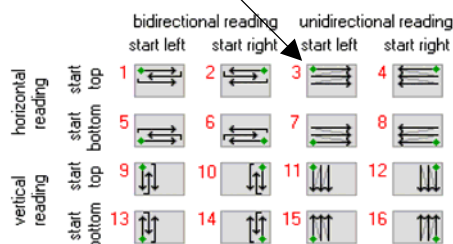


Abb. G.6: „Layout“ im „Well Mode“. Als Messreihenfolge wurde unter „Reading direction“ Nr. 3 ausgewählt.
P: Puffer + Standard-Agonist; X10-20: aufsteigende Verdünnungsreihe der zu testenden Substanz;
B: Puffer

Well Mode (Fluorescence)

Basic Parameters | Kinetic Windows | Layout | Concentrations / Volumes / Shaking | Injection Timing

Concentration
 Start concentration: 0
☒ Factor ☐ Increment ☐ Decrement 1

Volume (0...350 µl)
 Start volume: 0
☒ Factor ☐ Increment ☐ Decrement 1

Shaking Options
 Mode: ☒ Orbital ☐ Double orbital ☐ Linear
 Shaking width (1...7 mm): 1
 ⇨ Rounds per minute: 600
 Additional shaking: No shaking
 Shaking time (1...3600 s): 0

Content	Concentr.	Volume 1	Volume 2	Volume 3	Volume 4
S1		20			
S2		20			
S3		20			
S4		20			
S5		20			
S6		20			
S7		20			
B		20			
X1		20			
X2		20			
X3		20			
X4		20			
X5		20			

Pump to use: Pump 1 Pump 2 - -
 Pump speed (µl/s): 50 100 310 310
 Pipettor options:
 Shaking time (0...300 s): 0 0 0 0

Check timing OK Cancel Help

Pipettor Options (Volume group 1)

General Options | Washing

Source: Position 1

Aspirate depth (0...10.36 mm): 36.9 ?
 Dispense depth (-9.9...10.36 mm): 6.0 ?
☒ Use air gap

Mixing
 Pre aspiration volume (0...50 µl): 0
 Mix volume (0...50 µl): 0
 Mix cycles (0...200): 0

OK Cancel Help

Pipettor Options (Volume group 1)

General Options | Washing

Wash reagent volume (0...120 µl): 0
 Soak time (0...3600 s): 0
 Wash cycles (1...200): 1
☒ Re use wash reagent
 Rinse cycles (0...200): 4

OK Cancel Help

Abb. G.7: „Concentrations/Volumes/Shaking“ im „Well Mode“

Im Unterfenster „Pipettor Options“ müssen zusätzliche Parameter wie Eintauchtiefen und Spülvorgänge des Pipettors eingestellt werden.

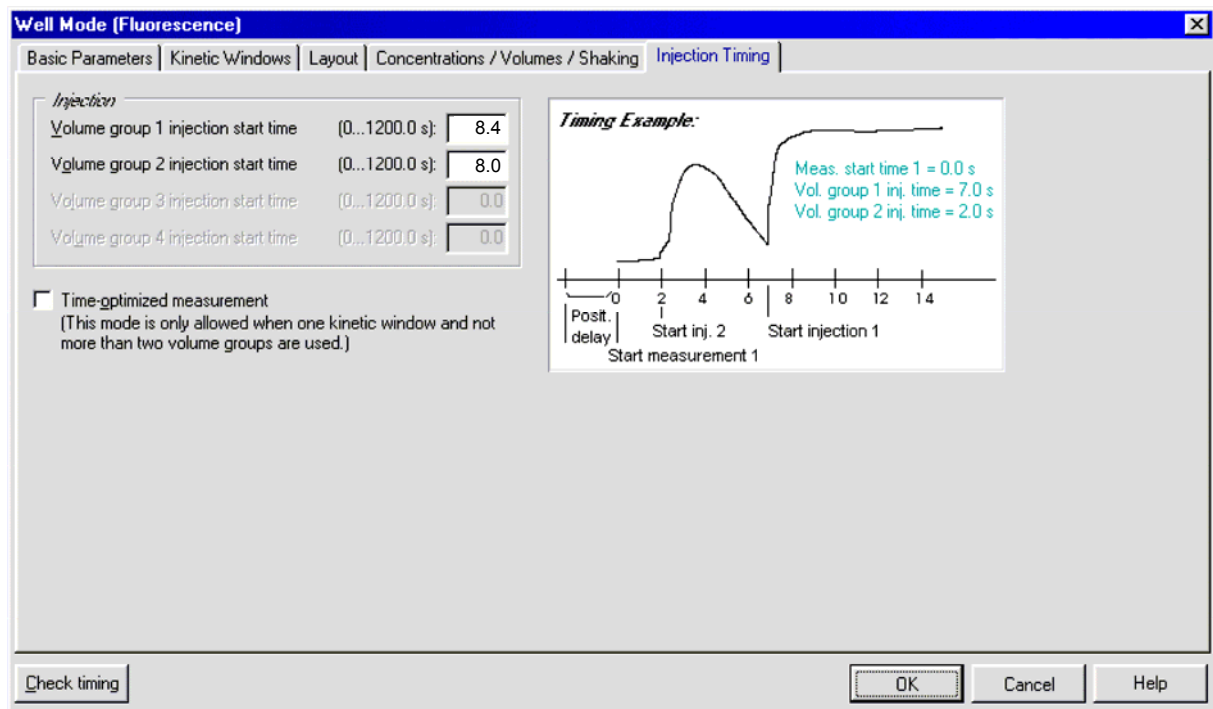


Abb. G.8: „Injection Timing“ im „Well Mode“

H. Abkürzungsverzeichnis

Abb.	Abbildung
abs.	absolut
Aqua dest.	destilliertes Wasser
arom.	aromatisch
BAPTA, AM	N,N'-[1,2-ethanediylbis(oxy-2,1-phenylene)]bis[N-[2-[(acetyloxy)-methoxy]-2-oxoethyl]], bis[acetoxymethyl]ester
B _{max}	maximale Bindungskapazität
BSA	bovines Serumalbumin
bzw.	beziehungsweise
ca.	circa
CDCl ₃	deutერიertes Chloroform
cAMP	cyclisches Adenosin-3', 5'-monophosphat
cDNA	Coding Desoxyribonucleic Acid
CF ₃ COOD	deutერიerte Trifluoressigsäure
CHO	Chinese Hamster Ovaries
Ci	Curie
CO ₂	Kohlendioxid
COSY	Correlated Spectroscopy
DC	Dünnschichtchromatographie
DEPT	Distortionless Enhancement of NMR signals by Polarization Transfer
DMAP	Dimethylaminopyridin
dd	Dublett vom Dublett
DMSO	Dimethylsulfoxid
[D ₆]-DMSO	deutერიertes DMSO
DNA	Desoxyribonucleic Acid
dpm	Decays per minute (Zerfälle pro Minute)
dt	Dublett vom Triplett
EI	Elektronenstoss-Ionisations-Detektor
ESI	Elektrospray-Ionisation
<i>et al.</i>	et alii (und andere)
eV	Elektronenvolt
FAB	Fast-Atom Bombardment
FKS	fetales Kälberserum
g	Gramm
GC	Gaschromatograph
GC/MS	GC, gekoppelt mit Massenspektrometer
G-Protein	Guanylnukleotid-bindendes Protein
h	Stunde(n)
H ₂	Wasserstoffgas
hD _x -Rezeptoren	humane Dopaminrezeptor-Subtypen
HEK	Human Embryonic Kidney
HEPES	4-(2-Hydroxyethyl)-1-piperazinethansulfonat
HMBC	Heteronuclear Multiple-Bond Correlation
HMQC	Heteronuclear Multiple Quantum Coherence
5-HT	5-Hydroxytryptamin
Hz	Hertz
IR	Infrarot
J	Kopplungskonstante
K	Kelvin
KBr	Kaliumbromid
Kap.	Kapitel
K _D	Gleichgewichtsdissoziationskonstante

K _i	Gleichgewichtsinhibitionskonstante
konz.	konzentriert
l	Liter
log	logarithmisch
Lsg.	Lösungsmittel
μM	mikromolar
m	Multipllett
mc	zentriertes Multipllett
MEOD	deuteriertes Methanol
mg	Milligramm
MG	Molekulargewicht
MHz	Megahertz
min.	Minute(n)
ml	Milliliter
mM	millimolar
mm	Millimol
MS	Massenspektrometrie
m/z	Masse/Ladung
N	Normal
NaOH	Natriumhydroxid
n.b.	nicht bestimmt
nM	nanomolar
NMR	Nuclear Magnetic Resonance
NOESY	Nuclear Overhauser Effect Spectroscopy
PBS	Phosphate buffered saline
PET	Positron-Emission-Tomography
Ph	Phenyl
PtO ₂	Platindioxid
PPA	Polyphosphorsäure
ppm	parts per million
q	Quartett
R _t	Retention time
RT	Raumtemperatur
R _f	Retentionsfaktor
s	Singulett
s.	siehe
Sdp.	Siedepunkt
sec.	Sekunde(n)
SIM	Selected Ion Monitoring
Smp.	Schmelzpunkt
SPECT	Single Photon Emission Computer Tomography
t	Triplett
Tab.	Tabelle
THF	Tetrahydrofuran
u.a.	unter anderem
uvm.	und viele mehr
z.B.	zum Beispiel
ZNS	Zentralnervensystem

I. Literaturverzeichnis

- [1] Abadi A., Lankow S., Höfgen B., Decker M., Kassack M., Lehmann J.: Dopamine/ Serotonin receptor ligands, Part III – Synthesis and biological activities of 7,7'-alkylene-bis-6,7,8,9,14,15-hexahydro-5*H*-benz[*d*]indolo[2,3-*g*]azecines – application of the bivalent ligand approach to a novel type of dopamine receptor antagonists, *Arch. Pharm.*, **2002**, 335, 367-373
 - [2] Aktories K., Förstermann U., Hofmann F., Starke K.: Allgemeine und spezielle Pharmakologie und Toxikologie, *Urban und Fischer Verlag, München*, **2005**, 127ff und 313ff
 - [3] Antonaccio L.D., Pereira N.A., Gilbert B., Vorbrueggen H., Budzikiewicz H., Wilson J.M., Durham L.J., Djerassi C.: Alkaloid Studies. XXXIII. Mass spectrometry in structural and stereochemical problems. VI. Polyneuridine, a new alkaloid from *Aspidosperma polyneuron* and some observations on mass spectra of indole alkaloids, *J. Am. Chem. Soc.*, **1962**, 84, 2161-2169
 - [4] Beyer H., Walter W.: Lehrbuch der organischen Chemie, *S. Hirzel Verlag Stuttgart*, **1991**, S. 150 ff.
 - [5] Birch A., *J.Chem. Soc.*, **1950**, 1551-1555
 - [6] Bischler A., Napieralski B., *Ber.*, **1893**, 26, 1903
 - [7] Bishop D.C., Tucker M.J.: Synthesis of some dibenzo[*a,h*]quinolizines, *J. Chem. Soc.*, **1970**, 2184-2186
 - [8] Bourne J.: SCH 23390: The first selective dopamine D₁-like receptor antagonist, *CNS Drug Reviews*, **2001**, 7, 399-414
 - [9] Bradford M.: A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding, *Anal. Biochem.*, **1976**, 72, 248-254
 - [10] Brown D.W., Dyke S.F., Sainsbury M., Lugton W.G.: The preparation of some benzo[*a*]quinolizines, dibenzo[*a,h*]quinolizines and dibenzo[*a,f*]quinolizines, *Tetrahedron*, **1970**, 4985-4994
 - [11] Brückner, R.: Reaktionsmechanismen, *Spektrum Akademischer Verlag GmbH*, **1996**, 211-212
 - [12] Charifson P.S. *et al* : Synthesis and Pharmacological Characterization of 1-phenyl-, 4-phenyl-, and 1-benzyl-1,2,3,4-tetrahydroisoquinolines as dopamine receptor ligands, *J. Med. Chem.*, **1988**, 1941-1946
 - [13] Claudi F. *et al* : Synthesis and pharmacological characterization of 2-(4-Chloro-3-hydroxyphenyl)ethylamine and *N,N*-Dialkyl derivatives as dopamine receptor ligands, *J. Med. Chem.*, **1992**, 35, 4408-4414
 - [14] Corrigan M.H., Gallen C.C., Bonura M.L., Merchant K.M.: Effectiveness of the selective D₄ antagonist sonepriprazole in schizophrenia: a placebo-controlled trial, *Biol. Psychiatry*, **2004**, 55, 445-451
-

- [15] Craig, J.C., Purushothaman K.K.: An improved preparation of tertiary amine N-Oxides, *J. Org. Chem.*, **1970**, 35, 1721-1722
- [16] Davis *et al.*: Dopamine in schizophrenia: a review and reconceptualization, *Am. J. Psychiatry*, **1991**, 148, 1474-1486
- [17] Decker M.: Synthese und pharmakologische Evaluierung strukturell neuartiger Dopamin-Rezeptor-Liganden vom Azecin- und Azepin-Typ, *Dissertation Bonn*, **2001**
- [18] Dilling H., Reimer C., Arolt V.: Basiswissen Psychiatrie und Psychotherapie, *Springer Verlag, Berlin*, **2003**
- [19] DIMDI: ICD-10-Richtlinie, <http://www.dimdi.de/de/klassi/diagnosen/icd10/htmlgm2005/fr-icd.htm>, **2005**
- [20] Duncan G.E., Sheitman B.B., Lieberman J.A.: An integrated view of pathophysiological models of schizophrenia, *Brain Res. Rev.*, **1999**, 29, 250-264
- [21] Emde H, Kull H.: Abbau quartärer Ammoniumverbindungen durch katalytische Hydrierung, XIII. Mitteilung über Kohlenstoff-Doppelbindung und Kohlenstoff-Stickstoff-Bindung, *Arch. Pharm. (Weinheim)*, **1936**, 46, 173-184
- [22] Enzensperger C., *Dissertation Jena in Arbeit*, **2005**
- [23] Fritsch P., *Ber.*, **1893**, 26, 419
- [24] Gensler W.J.: The synthesis of isoquinolines by the Pomeranz-Fritsch-Reaction, *Org. React.*, **1951**, 6, 191
- [25] Germani C.: Condensation of o-benzoylphenylacetic acid with a diamine and an amino alcohol, *Boll. Chim. Farm.*, **1971**, 110, 24-29
- [26] Glatt S.J., Faraone S.V., Tsuang M.T.: Meta-analysis identifies an association between the dopamine D₂ receptor gene and schizophrenia, *Mol. Psychiatry*, **2003**, 8, 911-915
- [27] Goldman-Rakic P.S., Castner S.A., Svensson T.H., Siever L.J., Graham V.W.: Targeting the dopamine D₁ receptor in schizophrenia: insights for cognitive dysfunction, *Psychopharmacol.*, **2004**, 174, 3-16
- [28] Halazy S.: G-protein coupled receptors, bivalent ligands and drug design, *Exp. Opin. Ther. Patents*, **1999**, 9, 431-446
- [29] Hannesian S., Parthasarathy S., Mauduit M.: The power of visual imagery in drug design. Isopavines as a new class of morphinomimetics and their human opioid receptor binding activity, *J. Med. Chem.*, **2003**, 46, 34-38
- [30] Harrison P.J.: The neuropathology of schizophrenia: a critical review of the data and their interpretation, *Brain*, **1999**, 122, 593-624
- [31] Haugland R.P.: Handbook of fluorescent probes and research products. 8th Edition, *Eugene: Molecular Probes*, **2001**
- [32] Hesse M., Meier H., Zeeh B.: Spektroskopische Methoden in der organischen Chemie, *Georg Thieme Verlag Stuttgart*, **1995**, 219-312
-

- [33] Hilditch A., Drew G.M.: Periphal dopamine receptor blockade by SCH 23390 and domperidone in vitro, *Eur. J. Pharmacol.*, **1985**, 116, 171-174
- [34] Höfgen B.: Etablierung eines funktionellen Calcium-Assays und seine Anwendung zum Screening potentieller Liganden an humanen, klonierten Dopamin-Rezeptoren, *Dissertation Bonn*, **2002**
- [35] Houben-Weyl, Methoden der organischen Chemie, Reduktionen Teil 1, *Georg Thieme Verlag Stuttgart*, **1980**
- [36] Hübschmann H.-J.: Handbook of GC/MS-Fundamentals and Applications, *WILEY-VCH Verlag GmbH, Weinheim*, **2001**
- [37] Hunter J.H., Hogg J. A.: Synthetic Sterols. III. Isomers of 1-ethyl-2-methyl-7-methoxy-1,2,3,4,9,10,11,12-octahydrophenanthrene-2-carboxylic acid, *Am Soc.*, **1949**, 1922-1925
- [38] Iida H., Aoyagi S., Kibayashi C.: Synthesis of 1,12b-Didehydrolycoran (α -Anhydro-dihydrocaranine) and 12ba-Lycoran (γ -Lycoran) via photocyclisation of an enamide-ketone, *J.C.S. Perlin I*, **1975**, 23, 2502-06
- [39] Kametani T. et al.: Synthesis of benzomorphan and related compounds. II. The debenzoylation of quarternary ammonium salts with thiophenol, *Tetrahedron Letters*, **1969**, 8, 635-638
- [40] Kao J.P.: Practical aspects of measuring $[Ca^{2+}]$ with fluorescent indicators, *Methods Cell Biol.*, **1994**, 40, 155-181
- [41] Kassack M., Höfgen B., Decker M., Eckstein N., Lehmann J.: Pharmacological characterization of the benz[*d*]indolo[2,3-*g*]azecine LE 300, a novel type of nanomolar dopamine receptor antagonist, *Naunyn Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.*, **2002**, 366, 543-550
- [42] Keabian J., Calne D.: Multiple receptors for dopamine, *Nature*, **1979**, 277, 93-96
- [43] Keabian J.W., Tarazi F.I., Kula N.S., Baldessarini R.J.: Compounds selective for dopamine receptor subtypes, *DDT*, **1997**, 2, 333-340
- [44] Kimber R.W.L., Parham J.C.: Aromatic cyclodehydration. LV. Quarternizations with chloroacetaldoxime, *J. Org. Chem.*, **1963**, 28, 3205-3206
- [45] Kirby A.J., Logan C.J.: Addition of amine nitrogen to an unactivated double bond. The mechanism of the reverse Hofmann elimination, *J. Chem. Soc. Perkin 2*, **1978**, 7, 642-8
- [46] Klein M., Kreienkramp P., Oehler K.U.: http://klein-kreienkamp-oehler.de/FG_Psychiatrie.htm, **2000**
- [47] Klinkhammer W.: Untersuchungen zur Synthese von Benz[*d*]indolo[2,1-*g*]azecin-Analoga, einer strukturell neuartigen Klasse von Dopamin Antagonisten; *Diplomarbeit Bonn*, **2001**
- [48] Koreeda M., Luengo J.I., *J. Org. Chem.*, **1984**, 49, 2081-2082
-

- [49] Kulkarni B.K., Dhar R.K., de Souza N.J.: Synthesis of protopine. A novel conversion of the protoberberine alkaloid stylopine to a tetrahydrodibenz[*c,g*]azecine derivative, *J. Heterocyclic Chem.*, **1990**, 27, 623-626
- [50] Lansbury P.T.: Lithium aluminum hydride reactions in pyridine solution. Reductive cleavage of ketones, *J. Am. Chem. Soc.*, **1961**, 83, 429-434
- [51] Lankow S.: Neuartige Dopamin-Rezeptor-Liganden vom Benz[*d*]indolo[2,3-*g*]azecin-Typ: Synthese, Struktur und biologische Aktivität, *Dissertation Bonn*, **2001**
- [52] Larock B.C., Fellows C.A.: Synthesis of aromatic carbonyl compounds via thallation-carbonylation of arenes, *Am Soc.*, **1982**, 1900-1907
- [53] Laruelle M., Abi-Dargham A.: Dopamine as the wind of psychotic fire: new evidence from brain imaging studies, *J. Psychopharmacol.*, **1999**, 13, 358-371
- [54] Leonard N.J., Oki M.: Cyclic aminoacyloins and aminoketones. VII. N-Aryl substitution and transannular interaction between N and C_{CO}, *J. Am. Chem. Soc.*, **1955**, 77, 6241-6244
- [55] Lewis *et al.*: Genome scan meta-analysis of schizophrenia and bipolar disorder, part II : schizophrenia, *Am. J. Hum. Gent.*, **2003**, 73, 34-48
- [56] Lieberman J.A.: Dopamine partial agonist – a new class of antipsychotic, *CNS Drugs*, **2004**, 18, 251-267
- [57] Lowry O., Rosebrough N., Farr A., Randall R.: Protein measurement with the Folin phenol reagent, *J. Biol. Chem.*, **1951**, 193, 265-275
- [58] Magnus P. *et al.*: Synthesis of strychnine and the wieland-gumlich aldehyde, *J. Am. Chem. Soc.*, **1993**, 115, 8116-8129
- [59] Malmberg A., Jerning E., Mohell N.: Critical reevaluation of spiperone and benzamide binding to dopamine D₂ receptors: evidence for identical binding sites, *Eur. J. Pharmacol.*, **1996**, 303, 123-128
- [60] Markgraf J.H., Choi B.Y.: Oxidation of benzyl ethers via phase transfer catalysis; *Synth. Commun.*, **1999**, 2405-2411
- [61] Meise W., Müller H.-L.: Neue Synthese von Dibenzo[*a,h*]chinolizinen; *Synthesis*, **1976**, 719-721
- [62] Mečiarová M., Toma S., Heribanová A.: Ultrasound assisted heterogeneous permanganate oxidations, *Tetrahedron*, **2000**, 56, 8561-8566
- [63] Mierau J., Schneider F., Ensinger H., Chio C., Lajiness M., Huff R.: Pramipexole binding and activation of cloned and expressed dopamine D₂, D₃ and D₄ receptors, *Eur. J. Pharmacol.*, **1995**, 290, 29-36
- [64] Mika H.J., Meise W.: Cyclisierungen von N-(2-Phenylethyl)-2-(2-hydroxyethyl)-benzamidin, *Arch. Pharm.*, **1985**, 318, 168-174
- [65] Mika H.J., Meise W.: N-(2-Phenylethyl)-isochroman-1-imine, *Arch. Pharm.*, **1989**, 322, 245-252
-

- [66] Minor D.L. *et al.*: Synthesis and molecular modeling of 1-phenyl-1,2,3,4-tetrahydroisoquinolines and related 5,6,8,9-tetrahydro-13b*H*-dibenzo[*a,h*]quinolizines as D₁ dopamine antagonists, *J. Med. Chem.*, **1994**, 4317-4328
- [67] Mirnics K., Middleton F.A. *et al.*: Molecular characterization of schizophrenia viewed by microarray analysis of gene expression in prefrontal cortex, *Neuron*, **2000**, 28, 53-67
- [68] Müller J., Schlittler E., *Helv. Chim. Act.*, **1948**, 914, 1119
- [69] Nagarajan K., Talwalker P. K., Kulkarni C. L., Shah R. K., Shenoy S. J., Prabhu S. S.: Antiimplantation agents: part II - 1,2-diaryl-1,2,3,4-tetrahydroisoquinolines. *Indian Journal of Chemistry, Section B: Organic Chemistry Including Medicinal Chemistry*, **1985**, 83-97.
- [70] Neumeyer *et al.*: Receptor affinities of dopamine D₁ receptor-selective novel phenylbenzazepines, *Eur. J. Pharmacol.*, **2003**, 474, 137
- [71] Oberdisse E., Hackenthal E., Kuschinsky K.: *Pharmakologie und Toxikologie*, Springer Verlag Berlin, **1999**, 131ff
- [72] Okubo Y., Suhara T., Suzuki K.: Decreased prefrontal dopamine D₁ receptors in schizophrenia revealed by PET, *Nature*, **1997**, 385, 634-636
- [73] Pictet A., Spengler T., *Ber.*, **1911**, 44, 2030
- [74] Pomeranz C, *Monatsh.*, **1893**, 14, 116
- [75] Redon S., Li Y., Reinaud O.: Unprecedented selective *ipso*-nitration of calixarenes monitored by the O-substituents, *J. Org. Chem.*, **2003**, 68, 7004-7008
- [76] Riggs M. R. *et al.*: Evaluation of isomeric 4-(chlorohydroxyphenyl)-1,2,3,4-tetrahydroisoquinolines as dopamine D-1 Antagonists, *J. Med. Chem.*, **1987**, 1887-1981
- [77] Rowley M., Bristow L.J., Hutson P.H.: Current and novel approaches to the drug treatment of schizophrenia, *J. Med. Chem.*, **2001**, 44, 477-501
- [78] Rudolf D.R.: Benz[*d*]indolo[2,3-*g*]azecine und Benz[*c*]indolo[2,3-*f*]azonine als potentielle Liganden an Dopamin- und Serotoninrezeptoren, *Dissertation Bonn* **1999**
- [79] Rücker G., Neugebauer M., Willems G.G.: Instrumentelle pharmazeutische Analytik, *Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft Stuttgart*, **2001**, 303-364 und 410-439
- [80] Schlüter G.: Die Bischler-Napieralski-Reaktion zur Synthese von 1-Phenyl[2]benzazepinen und Isochino[1,2-*a*][2]benzazepinen, *Dissertation Bonn*, **1987**
- [81] Schmitz E.: Ein neuer Weg zum 3,4-Dihydroisochinolin, *Chem. Ber.*, **1958**, 1133-1358
- [82] Schweikert P.M.: Dibenzo[*d,g*]-und Benzo[*d*]thieno[3,2-*g*]azecine als potentielle Arzneistoffe zur Behandlung der Schizophrenie; *Dissertation Bonn*, **1999**
- [83] Sedvall G., Farde L., Hall H., Halldin C., Karlsson P., Nordström A., Nyberg S., Pauli S.: Utilization of radioligands in schizophrenia research, *Clinical Neuroscience*, **1995**, 3, 112-121
-

- [84] Seeman P., Guan H.C., Van Tol H.H.: Dopamine D₄ receptors elevated in schizophrenia, *Nature*, **1993**, 365, 441-445
- [85] Seeman P., Van Tol H.H.: Dopamine receptor pharmacology, *Trends Pharmacol. Sci.*, **1994**, 15, 264-270
- [86] Strange P.: Importance of dopamine receptors for mechanism of therapeutic actions and side effects, *Pharmacol. Rev.*, **2001**, 78, 119-133
- [87] Tanaka T. *et al.* : Synthesis of 5,6,7,8,9,14-hexahydrodibenz[*d,g*]azecine derivatives, *Yakugaku Zasshi*, **1978**, 98, 649-652
- [88] Torrsell K.: Mechanism of dimethylsulfoxide oxidations, *Tetrahedron Letters*, **1966**, 37, 4445-4451
- [89] Unterhalt B., Jöstingmeier R.: Neue substituierte Isochromane, *Pharmazie*, **1996**, 641-644
- [90] Van Binst G., Baert R.B.: Benzo and indoloquinolizine derivatives III. Synthesis and structural assignment of 4b,5,6,7,8,8a,10,11-octahydro-15bH-tribenzo[*a,c,h*]quinolizine; *J. Heterocyclic Chem.*, **1975**, 1165-1174
- [91] Vlaeminck F., De Cock E., Tourwe D., Van Binst G. : Benzo and indoloquinolizine derivatives XX. Synthesis and conformation of 5,6,8,9-tetrahydro-13bH-dibenzo[*a,h*]quinolizine and 5,6,8,9,14,14b-hexahydrobenzo[*a*]indolo[3,2-*h*]quinolizine; *Heterocycles*, **1981**, 1213-1218
- [92] Webster R.A.: Neurotransmitters, drugs and brain function, *John Wiley & Sons Ltd.*, **2001**, 137ff und 351 ff
- [93] Whaley W.M., Govindachari R.: The Pictet-Spengler-Synthesis of tetrahydro-isoquinolines and related compound , *Org. React.*, **1951**, 6, 151
- [94] Whaley W.M., Govindachari R.: The preparation of 3,4-dihydroisoquinolines and related compounds by the Bischler-Napieralski reaction, *Org. React.*, **1951**, 6, 74
- [95] Witt T.: Zur Synthese, Stereochemie und Pharmakologie fünf- und sechsgliedriger Chinolizine, *Dissertation Bonn*, **1994**
- [96] Witt T., Hock F.J., Lehmann J.: 7-Methyl-6,7,8,9,14,15-hexahydro-5H-benz[*d*]indolo[2,3-*g*]azecine: A new heterocyclic system and a new lead compound for dopamine antagonists, *J. Med. Chem.*, **2000**, 43, 2079-2081
- [97] Wittig T.W.: Dibenz[*g,j*]-1-oxa-4-azacycloundecene, offenkettige Analoga und verwandte Strukturen als subtypselektive Liganden an humanen klonierten Dopamin-Rezeptoren – Synthese und Pharmakologie, *Dissertation Jena*, **2004**
- [98] Wong D.F. *et al.*: Positron emission tomography reveals elevated D₂ dopamine receptors in drugnaive schizophrenics, *Science*, **1986**, 234, 1558-1563
- [99] Yardley J.P.: Secondary amines via reductive cleavage reactions of N-oxides, *Synthesis*, **1973**, 8, 543-545
- [100] Yu G. *et al.*: A mild and efficient method for aromatic chlorination of electron-rich arylalkyl amines, *Tetrahedron Letters*, **2001**, 3247-3249
-

J. Register der synthetisierten Verbindungen

- 23:** 1-Phenyl-3,4-dihydroisochinolin S. 18, 19, 36, 99, 161
- 24:** 2-(2-Hydroxyethyl)-1-phenyl-3,4-dihydroisochinoliniumbromid S. 18, 19, 99, 161
- 25:** 2-(2-Hydroxyethyl)-1-phenyl-1,2,3,4-tetrahydroisochinolin S. 18, 19, 99, 162
- 26:** 5,6,8,9-Tetrahydro-13b*H*-dibenzo[*a,h*]chinolizin S. 18, 19, 25, 31, 32, 33, 99, 114, 163
- 34:** 5,6,7,8,9,14-Hexahydrodibenz[*d,g*]azecin S. 22, 25, 31, 130, 136, 139, 164
- 39:** 5,6,8,9-Tetrahydro-13b*H*-dibenzo[*a,h*]chinolizinium-N-oxid S. 25, 163
- 40:** 5,8,9,14-Tetrahydrodibenz[*d,g*]azecin-7(6*H*)-ol S. 25, 130, 139, 165
- 42:** 7-Benzyl-5,6,7,8,9,14-hexahydrodibenz[*d,g*]azecin-HCl S. 31, 130, 136, 166
- 43:** 7-Methyl-5,6,8,9-tetrahydro-13b*H*-dibenzo[*a,h*]chinoliziniumiodid S. 32, 82, 167
- 44:** 7-Methyl-5,6,7,8,9,14-hexahydrodibenz[*d,g*]azecin S. 32, 93, 106, 136, 137, 139, 167
- 45:** 7,7'-Butylen-bis-5,6,8,9,13b,13c-hexahydro-4a-*H*-isochino-[1,2-*a*]isochinoliniumdiiodid S. 33, 168
- 45a:** 7,7'-Pentylen-bis-5,6,8,9,13b,13c-hexahydro-4a-*H*-isochino-[1,2-*a*]isochinoliniumdibromid S. 33, 169
- 46:** 7,7'-Butylen-bis-5,6,7,8,9,14-hexahydrodibenz[*d,g*]azecin S. 33, 130, 138, 169
- 46a:** 7,7'-Pentylen-bis-5,6,7,8,9,14-hexahydrodibenz[*d,g*]azecindi-HCl S. 33, 130, 138, 170
- 48:** 1-Phenyl-1,2,3,4-tetrahydroisochinolin S. 36, 171
- 49:** 1-(1-Phenyl-3,4-dihydroisochinolin-2(1*H*)-yl)butan-2-ol S. 36, 172
- 50:** 5-Ethyl-5,6,8,9-tetrahydro-13b*H*-dibenzo[*a,h*]chinolizin S. 36, 172
- 51:** 5-Ethyl-7-methyl-5,6,8,9-tetrahydro-13b*H*-dibenzo[*a,h*]chinoliziniumiodid S. 36, 173
- 52:** 5-Ethyl-7-methyl-5,6,7,8,9,14-hexahydrodibenz[*d,g*]azecin-HCl S. 36, 130, 137, 174
- 54:** Isochroman-1-on S. 40, 58, 62, 72, 94, 96, 178
- 56:** 2-(2-Hydroxyethyl)-N-[2-(3-methoxyphenyl)ethyl]benzamid S. 40, 96, 179
- 57:** 3-Methoxy-5,6,8,9-tetrahydro-13b*H*-dibenzo[*a,h*]chinolizin S. 40, 44, 48, 96, 103, 180
- 58:** 3-Methoxy-7-methyl-5,6,8,9-tetrahydro-13b*H*-dibenzo[*a,h*]chinoliziniumiodid S. 40, 87, 96, 101, 181
- 59:** 3-Hydroxy-7-methyl-5,6,8,9-tetrahydro-13b*H*-dibenzo[*a,h*]chinoliziniumbromid S. 40, 186
-

- 60:** 3-Methoxy-5,8,9,14-tetrahydrodibenz[*d,g*]azecin-7(6*H*)-ethylcarboxylat S. 40, 52, 96, 103, 182
- 61:** 3-Methoxy-7-methyl-5,6,7,8,9,14-hexahydrodibenz[*d,g*]azecin-HCl S. 40, 93, 96, 103, 111, 130, 142, 144, 150, 182
- 62:** 3-Hydroxy-7-methyl-5,6,7,8,9,14-hexahydrodibenz[*d,g*]azecin-HCl S. 12, 13, 40, 46, 56, 101, 139, 141, 142, 144, 146, 148, 149, 150, 187
- 63:** 3-Methoxy-5,6,8,9-tetrahydrodibenzo[*a,h*]chinoliziniumiodid S. 24, 42, 180
- 64:** 7-Ethyl-3-methoxy-5,6,8,9-tetrahydro-13*bH*-dibenzo[*a,h*]chinoliziniumiodid S. 44, 185
- 65:** 7-Ethyl-3-hydroxy-5,6,8,9-tetrahydro-13*bH*-dibenzo[*a,h*]chinoliziniumbromid S. 44, 191
- 66:** 7-Ethyl-3-Methoxy-5,6,7,8,9,14-hexahydrodibenz[*d,g*]azecin-HCl S. 44, 131, 142, 186
- 67:** 7-Ethyl-3-hydroxy-5,6,7,8,9,14-hexahydrodibenz[*d,g*]azecin S. 44, 131, 141, 142, 191
- 68:** 4-Chloro-3-hydroxy-7-methyl-5,6,7,8,9,14-hexahydrodibenz[*d,g*]azecin-HCl S. 46, 101, 129, 131, 146, 188
- 69:** 2,4-Dichloro-3-hydroxy-7-methyl-5,6,7,8,9,14-hexahydrodibenz[*d,g*]azecin-HCl S. 46, 131, 146, 190
- 70:** 3-Hydroxy-5,6,8,9-tetrahydro-13*bH*-dibenzo[*a,h*]chinolizin S. 48, 50, 54, 101, 115, 194
- 72:** 3-Hydroxy-7-methyl-2-nitro-5,6,8,9-tetrahydro-13*bH*-dibenzo[*a,h*]chinoliziniumiodid S. 48, 192
- 73:** 2-Amino-3-hydroxy-7-methyl-5,6,7,8,9,14-hexahydrodibenz[*d,g*]azecin S. 48, 131, 149, 193
- 74:** 3-Hydroxy-5,6,8,9-tetrahydro-13*bH*-dibenzo[*a,h*]chinolizinium-N-oxid S. 50, 196
- 75:** 3-Hydroxy-5,6,7,8,9,14-hexahydrodibenz[*d,g*]azecin S. 50, 103, 126, 131, 139, 141, 198
- 76:** 3-Hydroxy-5,8,9,14-tetrahydrodibenz[*d,g*]azecin-7(6*H*)-ethylcarboxylat S. 50, 131, 141, 197
- 77:** 3-Hydroxy-7-(2-hydroxyethyl)-5,6,8,9-tetrahydro-13*bH*-dibenzo[*a,h*]chinoliziniumbromid S. 54, 199
- 78:** 3-Hydroxy-7-(2-hydroxyethyl)-5,6,7,8,9,14-hexahydrodibenz[*d,g*]azecin-HCl S. 54, 132, 141, 200
- 79:** 7-Methyl-5,6,7,8,9,14-hexahydrodibenz[*d,g*]azecin-3-yl-acetat-HCl S. 56, 132, 148, 200
- 81:** 3-Chloro-4-methoxybenzaldehyd S. 58, 203
- 82:** 2-Chloro-1-methoxy-4-(2-nitrovinyl)benzen S. 58, 204
- 84:** 2-(3-Chloro-4-methoxyphenyl)ethylamin S. 58, 99, 205
- 85:** 2-(2-Hydroxyethyl)-N-[2-(3-chloro-4-methoxyphenyl)ethyl]benzamid S. 58, 95, 206
-

- 86:** 2-[2-([2-(3-Chloro-4-methoxyphenyl)ethyl]amino)carbonyl]phenyl]-ethyl-ethyl-carbonat
S. 58, 61, 206
- 87:** 3-Chloro-2-methoxy-5,6,8,9-tetrahydro-13b*H*-dibenzo[*a,h*]chinolizin **S. 58, 61, 71, 207**
- 88:** 3-Chloro-2-methoxy-7-methyl-5,6,8,9-tetrahydro-13b*H*-dibenzo[*a,h*]chinoliziniumiodid
S. 58, 69, 91, 208
- 89:** 3-Chloro-2-hydroxy-7-methyl-5,6,8,9-tetrahydro-13b*H*-dibenzo[*a,h*]chinoliziniumbromid
S. 58, 211
- 90:** 2-Methoxy-7-methyl-5,6,7,8,9,14-hexahydrodibenz[*d,g*]azecin-HCl **S. 58, 64, 69, 132, 144, 147, 209**
- 91:** 2-Hydroxy-7-methyl-5,6,7,8,9,14-hexahydrodibenz[*d,g*]azecin-HCl **S. 58, 66, 109, 132, 144, 147, 212**
- 95:** 2-(2-Hydroxyethyl)-N-[2-(4-methoxyphenyl)ethyl]benzamid **S. 62, 201**
- 96:** 2-[2-([2-(4-Methoxyphenyl)ethyl]amino)carbonyl]phenyl]-ethyl-ethyl-carbonat **S. 62, 202**
- 97:** 2-Methoxy-5,6,8,9-tetrahydro-13b*H*-dibenzo[*a,h*]chinolizin **S. 62, 203**
- 98:** 1,3-Dichloro-2-methoxy-7-methyl-5,6,7,8,9,14-hexahydrodibenz[*d,g*]azecin-HCl **S. 64, 132, 147, 209**
- 99:** 1-Chloro-2-hydroxy-7-methyl-5,6,7,8,9,14-hexahydrodibenz[*d,g*]azecin-HCl **S. 66, 132, 147, 213**
- 100:** 3-Chloro-2-hydroxy-7-methyl-5,6,7,8,9,14-hexahydrodibenz[*d,g*]azecin-HCl **S. 66, 110, 132, 147, 214**
- 104:** 3-Chloro-2-methoxy-7-methyl-6,7,8,9-tetrahydrodibenz[*d,g*]azecin-14(5*H*)-on **S. 72, 91, 93, 134, 152, 210**
- 105:** 2-(1-Chloro-4-methoxyphenyl)ethylamin-HCl **S. 72, 217**
- 106:** 2-(2-Hydroxyethyl)-N-[2-(1-chloro-4-methoxyphenyl)ethyl]benzamid **S. 72, 218**
- 107:** 2-[2-([2-(1-Chloro-4-methoxyphenyl)ethyl]amino)carbonyl]phenyl]-ethyl-ethyl-carbonat
S. 72, 219
- 108:** 4-Chloro-1-methoxy-5,6,8,9-tetrahydro-13b*H*-dibenzo[*a,h*]chinolizin **S. 72, 219**
- 109:** 4-Chloro-1-methoxy-7-methyl-5,6,8,9-tetrahydro-13b*H*-dibenzo[*a,h*]chinoliziniumiodid
S. 72, 220
- 110:** 4-Chloro-1-hydroxy-7-methyl-5,6,8,9-tetrahydro-13b*H*-dibenzo[*a,h*]chinoliziniumbromid
S. 72, 222
- 111:** 1-Methoxy-7-methyl-5,6,7,8,9,14-hexahydrodibenz[*d,g*]azecin **S. 72, 133, 144, 221**
- 112:** 1-Hydroxy-7-methyl-5,6,7,8,9,14-hexahydrodibenz[*d,g*]azecin **S. 72, 133, 144, 223**
- 114:** 2-(3-Methoxyphenyl)ethylalkohol **S. 78, 224**
-

- 116:** 6-Methoxyisochroman S. 78, 224
- 117:** 6-Methoxyisochroman-1-on S. 78, 225
- 118:** 2-(2-Hydroxyethyl)-4-methoxy-N-[2-(3-methoxyphenyl)ethyl]-benzamid S. 78, 225
- 119:** 3,11-Dimethoxy-5,6,8,9-tetrahydro-13b*H*-dibenzo[*a,h*]chinolizin S. 78, 226
- 120:** 3,11-Dimethoxy-7-methyl-5,6,8,9-tetrahydro-13b*H*-dibenzo[*a,h*]chinoliziniumiodid S. 78, 227
- 121:** 3,11-Dihydroxy-7-methyl-5,6,8,9-tetrahydro-13b*H*-dibenzo[*a,h*]chinoliziniumbromid S. 78, 228
- 122:** 3,11-Dimethoxy-7-methyl-5,6,7,8,9,14-hexahydrodibenz[*d,g*]azecin-HCl S. 78, 133, 150, 227
- 123:** 3,11-Dihydroxy-7-methyl-5,6,7,8,9,14-hexahydrodibenz[*d,g*]azecin S. 78, 112, 133, 150, 229
- 124:** 7-Methyl-6,7,8,9-tetrahydrodibenz[*d,g*]azecin-14(5*H*)-on-HCl S. 82, 93, 133, 152, 175
- 125:** 2-Methyl-1-(2-vinylphenyl)-1,2,3,4-tetrahydroisochinolin-HCl S. 82, 133, 153, 176
- 129:** 3-Methoxy-7-methyl-6,7,8,9-tetrahydrodibenz[*d,g*]azecin-14(5*H*)-on-HCl S. 87, 93, 133, 152, 184
- 136:** 7-Benzyl-7-methyl-14-oxo-5,6,7,8,9,14-hexahydrodibenz[*d,g*]azeciniumbromid S. 93, 176
- 138:** 2-[2-(3-Methoxyphenyl)ethyl]-3,4-dihydroisochinolin-1(2*H*)-on S. 94, 116, 230
- 139:** 2-[2-(3-Methoxyphenyl)ethyl]-1,2,3,4-tetrahydroisochinolin S. 94, 117, 134, 153, 230
- 140:** 2-[2-(3-Chloro-4-methoxyphenyl)ethyl]-3,4-dihydroisochinolin-1(2*H*)-on S. 95, 231
- 141:** 2-[2-(3-Chloro-4-methoxyphenyl)ethyl]-1,2,3,4-tetrahydroisochinolin S. 95, 153, 232
- 142:** 2-Bromethylbenzaldehyd S. 96, 177
- 143:** 2-[2-(3-Methoxyphenyl)ethyl]-3,4-isochinoliniumbromid S. 96, 178
- 148:** N-[2-(3-Chloro-4-methoxyphenyl)ethyl]benzamid S. 99, 215
- 149:** 6-Chloro-7-methoxy-1-phenyl-3,4-dihydroisochinolin S. 99, 216
- 150:** 6-Chloro-2-(2-hydroxyethyl)-7-methoxy-1-phenyl-3,4-dihydroisochinoliniumbromid S. 99, 216
- 151:** 6-Chloro-2-(2-hydroxyethyl)-7-methoxy-1-phenyl-1,2,3,4-tetrahydroisochinolin S. 99, 217
- 153:** 2-Chloro-3-hydroxy-5,6,8,9-tetrahydro-13b*H*-dibenzo[*a,h*]chinolizin S. 101, 195
- 154:** 4-Chloro-3-hydroxy-7-methyl-5,6,8,9-tetrahydro-13b*H*-dibenzo[*a,h*]chinoliziniumiodid S. 47, 101, 196
-

Selbstständigkeitserklärung

Hiermit erkläre ich,

- dass ich die vorliegende Arbeit selbstständig und nur unter Verwendung der angegebenen Hilfsmittel und Literatur angefertigt habe,
- dass die Arbeit weder teildentisch noch identisch mit einer Arbeit ist, die der Friedrich-Schiller-Universität Jena oder einer anderen Hochschule zur Erlangung des akademischen Grades oder als Prüfungsleistung vorgelegt worden ist und
- dass mir die geltende Promotionsordnung der Biologisch-Pharmazeutischen Fakultät der Friedrich-Schiller-Universität bekannt ist.

Jena, 29. März 2005

Patrick Mohr

LEBENS LAUF

Persönliche Daten

Name: Patrick Mohr
geboren am: 05.02.1975 in Essen
Familienstand: verheiratet

Schul- und Ausbildungsdaten

Schule: Grundschule Kommern, 1981-1985
Gymnasium Mechernich, 1985-1994
Wehrdienst: Wachbatallion Siegburg, 1994-1995
Studium: Pharmazie an der Universität Bonn, 1995-1999
Approbation: 19.12.2000
Praktikum: Trommsdorff GmbH & Co. KG, Alsdorf, 01.11.1999-31.04.2000
Adalbert-Apotheke, Aachen, 01.05.-31.10.2000

Wissenschaftliche Tätigkeit

Pharmazeutisches Institut der Universität Bonn, 01.04.2001- 30.09.2001
(Wissenschaftliche Hilfskraft)
Pharmazeutisches Institut der Universität Bonn, 30.09.2001- 01.04.2002
(Wissenschaftlicher Mitarbeiter)
Institut für Pharmazie der Universität Jena, seit 02.04.2002
(Wissenschaftlicher Mitarbeiter)

Berufliche Tätigkeit

Nebenberufliche Tätigkeit während der Promotion in Bonn in der
Adalbert-Apotheke, Aachen, 01.04.2001-28.02.2002
Urlaubsvertretung in der
Adler-Apotheke, Gransee, 15.01.-19.01.2001
Schwanen-Apotheke, Oberhausen, 29.01.-07.02.2001
Engel-Apotheke, Bad Soden-Salmünster, 12.02.-09.03.2001

Jena, 29. März 2005
